

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**UTJECAJ PIGMENTIRANOSTI ZRNA KUKURUZA NA BOJU
MESA, KOŽE I TRBUŠNOG MASNOG TKIVA TOVNIH
PILIĆA**

DIPLOMSKI RAD

Andrija Makar

Zagreb, travanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Hranidba životinja i hrana

**UTJECAJ PIGMENTIRANOSTI ZRNA KUKURUZA NA BOJU
MESA, KOŽE I TRBUŠNOG MASNOG TKIVA TOVNIH
PILIĆA**

DIPLOMSKI RAD

Andrija Makar

Mentor: Prof. dr. sc. Darko Grbeša

Zagreb, travanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, Andrija Makar, JMBAG 0178074455, rođen dana 07.11.1989. u Varaždinu, izjavljujem
da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ PIGMENTIRANOSTI ZRNA KUKURUZA NA BOJU MESA, KOŽE I TRBUŠNOG MASNOG

TKIVA TOVNIH PILIĆA

Svojim potpisom jamčim:

- jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Andrije Makara**, JMBAG 0178074455, naslova

**UTJECAJ PIGMENTIRANOSTI ZRNA KUKURUZA NA BOJU MESA, KOŽE I TRBUŠNOG MASNOG
TKIVA TOVNIH PILIĆA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Prof. Dr. sc. Darko Grbeša, mentor

Doc. dr. sc. Kristina Kljak, neposredni voditelj

2. Prof. Dr. sc. Zlatko Janječić, član

3. Doc. Dr. sc. Ivica Kos, član

1. Uvod	1
1.1. Hipoteza i cilj istraživanja.....	2
2. Pregled literature.....	3
2.1. Karotenoidi	3
2.1.1. Vitamin A.....	5
2.1.2. Antioksidansi.....	6
2.1.3. Pigmenti	6
2.2. Peradarska proizvodnja	9
2.3. Proizvodnja, primjena i svojstva kukuruza	9
2.3.1. Proizvodnja	9
2.3.2. Sadržaj karotenoida u žutom kukuružu	11
2.3.3. Boja zrna	12
2.3.4. Smještaj karotenoida u zrnu kukuruza	13
2.3.5. Biodostupnost karotenoida.....	15
3. Materijali i metode	17
3.1. Pokus.....	17
3.2. Kukuruz	18
3.3. Hranidba	20
3.4. Određivanje boje zrna prema CIE L*a*b*	23
3.5. Statistička obrada podataka	23
4. Rezultati i rasprava	24
4.1. Boja zrna kukuruza prema CIE L*a*b*	25
4.2. Boja prsnog mesa.....	26
4.3. Boja prsne kože	29
4.4. Boja potkožne masti	32
4.5. Boja kože piska.....	34
5. Zaključak.....	37
6. Literatura.....	38
Životopis	45

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Andrije Makara**, naslova

UTJECAJ PIGMENTIRANOSTI ZRNA KUKURUZA NA BOJU MESA, KOŽE I TRBUŠNOG MASNOG TKIVA TOVNIH PILIĆA

Zbog povećane zabrinutosti radi upotrebe sintetskih aditiva u prehrambenom lancu traže se odgovarajući prirodni izvori pigmenata u proizvodnji brojlerskih pilića. Ti prirodni izvori mogu znatno povećati troškove proizvodnje, dok karotenoidi zrna kukuruza, glavne komponente u smjesama peradi, ostaju zanemareni. Cilj ovog istraživanja bio je istražiti komercijalne hibride kukuruza prikladne za povećanu pigmentaciju kod brojlera. Ukupno 325 brojlerskih Ross 308 pilića podijeljeno je u 25 kaveza kojima je potpuno nasumičnim odabirom dodijeljeno ukupno 5 različitih hranidbenih tretmana (5 tretmana x 5 kaveza) koji su se razlikovali samo u hibridu kukuruza. Četiri pokusne (Riđan, Mejaš, Kekec i BC 572) i jedna kontrolna (nepoznati hibrid) krmna smjesa za hranidbu brojlera nisu sadržavale dodane pigmente. Nakon 32 dana pokusa, brojlerski pilići humano su žrtvovani, a boja prema CIE L* a* b* sustavu bila je određena u rashlađenim dijelovima mesa prsa, kože, abdominalne masti i piska koristeći Minolta CR-410 kromametar. Hibridi kukuruza različitog karotenoidnog profila zrna razlikovali su se u parametrima boje: svjetlina 52,59 – 86,36; crvenost -0,60 – 0,85 i žutost 28,05 – 36,66. Kod analize boje dijelova trupa brojlera, svjetlina je bila slična između tretmana s prosječnim vrijednostima 59,03, 65,98, 69,57 i 73,21 za meso, kožu, abdominalnu mast i pisak. Hibrid kukuruza signifikantno je utjecao samo na crvenost kod piska; kontrolni hibrid imao je najmanju (4,70), dok je BC 572 imao najveću vrijednost (7,99) u skladu s povećanim dnevnim unosom zeaksantina i β -kriptoksantina ($r = 0,54$ odnosno $0,65$, $P = 0,01$). Najveći utjecaj na pigmentaciju brojlera pokazao se preko rezultata žutosti ($P = 0,05$) sa sljedećim vrijednostima: 14,50 – 17,14 za meso, 18,28 – 22,69 za kožu, 19,19 – 21,51 za masnoću i 51,77 – 58,57 za pisak. Kontrola je imala najmanje vrijednosti u svim rasponima, dok su Riđan i BC 572 imali najveće vrijednosti u mesu i masnoći. Između komercijalnih hibrida postoje oni s visokim sadržajem karotenoida, što im osigurava značajnu ekonomsku vrijednost u pigmentaciji brojlerskih pilića.

Ključne riječi: hibridi kukuruza, karotenoidi, pigmentacija brojlera

Summary

Of the master's thesis – student **Andrija Makar**, entitled

EFFECT OF MAIZE GRAIN PIGMENTATION ON COLOUR OF MEAT, SKIN AND ABDOMINAL FAT IN BROILER CHICKEN

Increased concern about use of synthetic additives in food chain led to search for suitable natural sources in broiler pigmentation. These natural sources could considerably increase production costs while carotenoids from maize, a major component in diet, remain neglected. The aim of this research was to explore commercial maize hybrids suitable for increased broiler pigmentation. In total, 325 1-day-old male Ross 308 broiler chicks were allocated in 25 pens, and pens were in complete randomized design assigned to one of five dietary treatments (5 treatments×5 cages) differed only in maize hybrid. Four experimental (BC 572, Kekec, Mejaš; Riđan) and one control (unknown hybrid) diets were not supplemented with pigments. On day 32 of trial, broilers were humanely euthanized, and colour according to the CIE $L^*a^*b^*$ was determined in chilled breast meat and skin, shank skin and abdominal fat using a Minolta CR-410 Chroma meter. Maize hybrids differed in carotenoid profile, and hence colour parameters: : lightness 52.59 – 86.36; redness -0.60 – 0.85 and yellowness 28.05 – 36.66. In colour analysis of broiler body parts, lightness scores were similar among treatments (59.03, 65.98, 69.57 and 73.21 for meat, skin, fat and shank, respectively). Redness was significantly affected by maize hybrid only in shank skin; control had the lowest (4.70) while BC 572 had the highest value (7.99) in accordance with increasing zeaxanthin and β -cryptoxanthin intake ($r=0.54$ and 0.65 , respectively, $P<0.01$). The highest impact on broiler pigmentation treatments showed through yellowness score ($P<0.05$) with obtained: 14.50-17.14 for meat, 18.28-22.69 for skin, 19.19-21.51 for fat, and 51.77-58.57 for shank. Control had lowest values in all ranges while Riđan and BC 572 had the highest values in meat and fat. Among commercial hybrids, there are ones with high carotenoid content providing cost-effective pigmentation in broiler chickens.

Keywords: maize hybrid, carotenoids, broiler pigmentation

1. Uvod

Kukuruz se u svijetu proizvodi na oko 160 milijuna (Grbeša, 2016), a u RH na oko 250 tisuća hektara s prosječnim urodom od 8,5 tona po hektaru (Državni zavod za statistiku, 2016), što ga postavlja u sam vrh svjetske proizvodnje svih žitarica. Kukuruz poslije riže sadrži najviše škroba među žitaricama, a on je izvor energije za ljude i domaće životinje te sirovina za proizvodnju bioetanola i preko pet stotina različitih proizvoda. U hranidbi tovniha životinja kukuruz je najzastupljenije krmivo (do 70 %) u potpunoj hrani/obrocima u većini država svijeta. Dodatna vrijednost kukuruza u odnosu na druge žitarice je sadržaj značajnih količina karotenoida (Kljak i sur., 2012). Karotenoidi su velika (700) prirodna skupina tetraterpenoidnih pigmenata koji se međusobno razlikuju po boji od žute od crvenkaste te oni prisutni u kukuruзу daju boju endospermu, prenose se u kožu, potkožnu mast i žutanjak jaja dajući im za naše tržište poželjnu žuto-narančastu boju (Karadas i sur., 2006). Meso peradi uz svinjsko je meso glavni izvor aminokiselina građana razvijenih država. Uz protein, meso je izvor i lipida u kojima su vezani karotenoidi.

U kukuruзу su prisutni karoteni: α - i β -karoten te β -kriptoksantin od kojih nastaje vitamin A te ksantofili zeaksantin i lutein koji su glavni pigmenti tkiva peradi, a obje su grupe antioksidanti. Stoga se u hranidbi peradi cijene hibridi kukuruza koji pored škroba sadrže i primjerenu koncentraciju karotenoida jer se time smanjuju potrebe za dodatnim količinama sintetskog vitamina A i pigmenata, što u konačnici pojeftinjuje proizvodnju pilećeg mesa. Nadalje, dopuštene gornje količine vitamina A te sintetskih i ekstrahiranih karotenoidnih pigmenata smanjene su zbog lošeg utjecaja na zdravlje životinja i ljudi (Karadas i sur., 2006). S hranidbenog stanovišta važno je da životinje iz jednog kilograma krmiva kao što je kukuruz, koji se s visokim udjelom uključuje u potpunu hranu kao izvor energije, dobiju u primjerenoj količini i druge poželjne tvari, kao što su karotenoidi u slučaju kukuruza.

Suvremeni brojlerski pilići selekcionirani su na sposobnost taloženja pigmenata u lipidima kože. Tipične potpune krmne smjese za tov pilića na bazi standardnog kukuruza i sojine sačme ne sadrže dovoljno karotenoida potrebnih za proizvodnju vitamina A i bojenje kože u zlatno-žutu boju (Castaneda i sur., 2005). Zbog svega navedenog, sve je veći interes za hibridima kukuruza visokog sadržaja karotenoida koji djelomično zamjenjuje dodavanje vitamina A i pigmenata u hranu peradi. Kukuruz s iznadprosječnim udjelom karotenoida zanimljiv je iz više razloga: kao prvo, za prehranu ljudi u državama gdje je hrana siromašna vitaminom A (malo voća i povrća), a kukuruz čini znatni dio obroka, kao drugo, za ratare jer mu dodatna vrijednost daje i višu cijenu te kao treće, za peradare jer takvim kukuruzom, osim što dobiju više priraste nego s drugim žitaricama, dobiju žuće brojlerske piliće i žutanjak jaja.

Mogućnost porasta sadržaja karotenoida u zrnju velika je zbog njegova vrlo varijabilnog sadržaja i jednostavne selekcije preko boje zrnja.

1.1. Hipoteza i cilj istraživanja

Hipoteza istraživanja je:

Hibridi kukuruza različite pigmentiranosti zrna utjecat će na boju mesa, kože i trbušnog masnog tkiva.

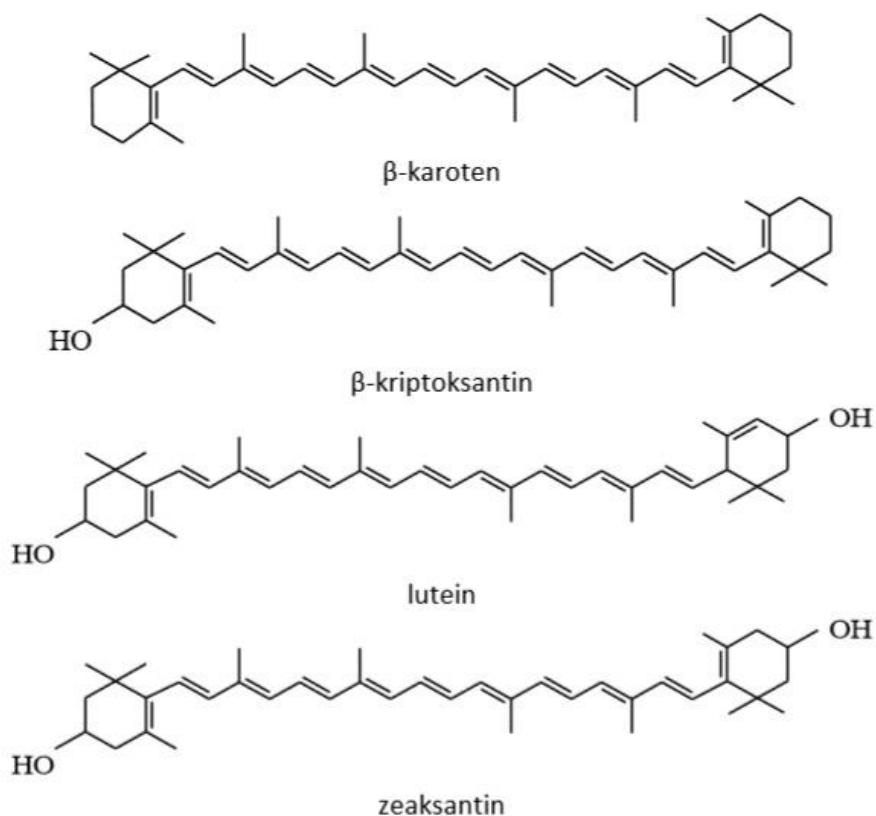
Temeljem postavljene hipoteze cilj je ovog rada istražiti utjecaj hranidbe brojlerskih pilića s hibridima kukuruza različitog udjela karotenoida na boju mesa, kože i trbušnog masnog tkiva.

2. Pregled literature

2.1. Karotenoidi

Karotenoidi su velika grupa prirodnih tetraterpenoidnih pigmenata koje sintetiziraju fotosintetski organizmi kao što su biljke, alge, gljive i bakterije, dajući im žutu, narančastu i crvenu boju. Karotenoidi u fotosintetskim organizmima imaju uloge u fotosintezi i fotozaštiti (Hashimoto i sur., 2016). Isto tako, oni su prekursori za sintezu fitohormona, abscisne kiseline i strigolaktone (Al-Babili i Bouwmeester, 2015). Nadalje, derivati karotenoida signalne su molekule koje sudjeluju u razvoju biljaka i odgovoru na okolišne izazove (Hou i sur., 2016). Prema kemijskoj strukturi, karotenoidi se dijele u karotene i ksantofile. Od karotena, u hrani životinja najzastupljeniji su α - i β -karoten i likopen. Prisutnost polarne grupe, kao na primjer epoksil, hidroksil i keto, utječe na njihovu polarnost i preko nje na biološke funkcije (Mattea i sur., 2009). Naime, nepolarni karotenoidi nemaju pigmentacijska svojstva u peradi. Prema funkcijama u biljkama karotenoidi se dijele u primarne i sekundarne. Primarni karotenoidi su karoteni koji su fotosintetski pigmenti i sudjeluju u procesu fotosinteze; oni su narančasto do crvene boje i prenose energiju svjetlosti na klorofile. Isto tako, poznati su i kao antioksidansi biljke jer apsorbiraju energiju singletnog kisika. Sekundarni ksantofili, smješteni u listu, ne sudjeluju direktno u procesu fotosinteze te su dopunski pigmenti biljaka (Carilho i sur., 2014).

U prirodi postoji 400 – 700 karotenoida, ovisno o izvoru literature, a domaće životinje i ljudi koriste do 40 karotenoida; među njima su u hrani najzastupljeniji α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin, likopen te lutein i zeaksantin (slika 1; Cuttriss i sur., 2011). Žuti kukuruz sadrži sve najzastupljenije karotenoide u krmivima, osim likopena.



Slika 1. Struktura najčešćih karotenoida

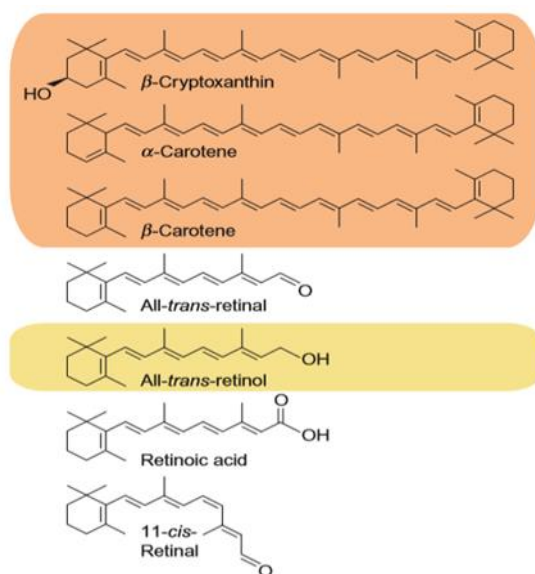
Izvor: https://www.researchgate.net/figure/266354461_fig2_Figure-2-Chemical-structures-ofseveral-selected-carotenoids-Jaswir-and-Noviendri

Karotenoidi su široko rasprostranjeni u prirodi i procjenjuje se da ih se proizvede oko 100 milijuna tona na godinu (Riggi, 2010). U tipičnoj hrani brojerskih pilića glavni su izvori boje ksantofili (mg/kg) iz žutog kukuruza (22), kukuruznog glutena (288), dehidrirane lucerne (207) i, u ekološkoj proizvodnji, paša (243) (Skrivan i Englmaierova, 2014). Međutim, jedino je kukuruz krmivo koje čini preko 50 % hrane pilića te ima značajniji utjecaj na boju kože pilića.

Karotenoidi kao vitalni sastojci hrane domaćih životinja imaju tri glavne uloge: dio ih je prekursor za sintezu vitamina A, dok su svi antioksidansi i bojila tkiva životinja.

2.1.1. Vitamin A

Životinje sadrže vitamin A koji dobivaju kao sintetski spoj ili iz proizvoda drugih životinja. Isto tako, životinje sintetiziraju vitamin A iz karotenoida fotosintetskih organizama (biljaka). Pojednostavljeno prikazano, samo se neki karotenodi (60 od 700), a najvažniji su: α -, β -i γ -karoten te β -kriptoksantin, nazivaju provitamini vitamina A jer se u tijelu životinje pretvaraju u retinal, a zatim se on redukcijom pretvara u retinol ili oksidacijom u retinoičnu kiselinu, koji su uskladišteni u tjelesnim tkivima, mesu, mlijeku i jajima (slika 2; Olson i sur. 1989; Combs, 2008).



Slika 2. Sinteza vitamina A iz provitamina A karotenoida
(Izvor: Cuttriss i sur., 2011)

Najvažniji i najsnažniji provitamin A karoten u biljnoj hrani za perad je β -karoten, a od njega je dvostruko slabiji β -kriptoksantin (Surai, 2002). Kao standard uzima se da je 1 IJ aktivnost 0,30 μ g retinola, dok treba 1,8 μ g β -karotena i dvostruko više β -kriptoksantina za sintezu 1 IJ vitamin A (BASF, 2009). Sintetski vitamin A redovito se dodaje u hranu domaćih životinja pa tako i pilića u tovu u koncentracijama do 13 000 IJ u predstarter te do 8000 IJ/kg u finiše (Kleyn, 2013).

Dosada je utvrđeno šest bitnih funkcija vitamina A: vid, zaštita epitela, rast, diferencijacija stanica, morfogeneza, imuni odgovor i međumembranski prijenos protona (Kleyn, 2013). Prema prije navedenom autoru, vitamin A potreban je za normalan razvoj i obnovu epitelnog tkiva kojime su obložene unutrašnje stijenke crijeva i pluća te je zbog toga prva obrana organizma od uzročnika bolesti. U peradi kojoj manjka vitamin A već se dvadesetog dana života javljaju sljedeći simptomi: zaostajanje u rastu, slabi avitalni pilići, izmožden izgled, nakostriješeno perje te nesiguran hod. Ako manjak potraje, javljaju se nateknute oči (kseroftalmija) i iscjedak iz nosa. Pri marginalnom manjku javljaju se nervni poremećaji. U odraslih kokoši javlja se manja nesivost i slaba valivost pilića.

2.1.2. Antioksidansi

U prirodi se stvaraju oksidansi kojima nedostaje elektron u zadnjoj elektronskoj ljusci te ga „uzimaju“ od drugih spojeva koji time postaju opasni po zdravlje životinja. Oksidansi nastaju tijekom metabolizma kisika u organizmu, sastojci su hrane ili dolaze iz okoline, sve njih u organizmu neutraliziraju antioksidansi (Valko i sur., 2007). Karotenoidi, osobito ksantofili koji su prisutni u prirodnoj hrani u većoj količini, dio su obrambenog antioksidacijskog sustava koji efikasno neutraliziraju peroksil radikale (Surai, 2002). Međutim, njihova antioksidacijska moć potječe od bogatstva elektronima u visokonezasićenim kemijskim vezama karotenoida te se oni gube, najviše zbog oksidacije, tijekom prerade i skladištenja krme te proizvodnje krmnih smjesa.

2.1.3. Pigmenti

Žuta boja kože pilića u tovu jedan je od glavnih kriterija pri kupnji piletine koju kupci povezuju s prirodnom ishranom i zdravljem pilića (Baker i Günther, 2004). Intenzitet boje ovisi o povijesnim navikama stanovništava i regije. Tako južno talijansko tržište više voli jaku žutu jer su se kokoši hranile žutim kukuruzom, dok sjeverno tržište traži blago žutu boju piletine jer su se kokoši hranile pšenicom (Fletcher, 1989; 2002). Stoga su suvremeni svjetski uzgajivači selekcionirali piliće na sposobnost akumulacije boje u lipidima kože, a intenzitet boje varira između genotipova, spola (pilenke su žuće zbog više masti) i zdravlja (kokcidioza smanjuje apsorpciju karotenoida) pilića (Petracci i Fletcher, 2002). Za razliku od goveđeg mesa, koža ostaje na mesu pilića. Svojstvo karotenoida brojne su konjugirane dvostruke veze koje

apsorbiraju svjetlost i tako daju žutu, narančastu ili crvenu boju fotosintetskim organizmima. Perad akumulira polarne ksantofile, ali ne i nepolarne karotene (Hencken, 1992). β -kriptoksantin je narančasti, a β -karoten crveni pigment te ako nisu iskorišteni za sintezu vitamina A, također sudjeluju u bojenju (Mortensen, 2006).

Kako ksantofili krmiva čine oko 80 % karotenoida kukuruza i kako se akumuliraju u tkivima, oni su najznačajniji pigmenti tipične hrane peradi. Danas se tove brzorastući pilići koji u kratko vrijeme trebaju dobiti poželjnu boju kože te im se u hranu dodatno stavljaju visoke koncentracije pigmenata te oni sudjeluju s 8 – 10 % u cijeni hrane. Tražena boja postiže se kada hrana sadrži 60 mg/kg ksantofila, a u EU u hranu pilića u tovu dopušteno je dodavati sintetskih ili ekstrahiranih ksantofila do najviše 80 mg/kg i samo do 8 mg/kg kantaksantina (crveni pigment). Naime, poželjna boja kože postiže se kombinacijom ksantofila žute (apo-ester, lutein, zeaksantin) i crvene boje [kantaksantin (CTX), citranaksantin, kapsantin ilikapsorubin]. Danas je trend smanjenje korištenja sintetskih pigmenata i porast korištenja prirodnih ksantofila ekstrahiranih iz njima bogatih biljaka (neven) ili uključivanjem u hranu krmiva koja sadrže ksantofile (žuti kukuruz, kukuruzni gluten, dehidrirana lucerna). Žuti kukuruz i njegovi suproizvodi te dehidrirana lucerna jedina su krmiva u hrani peradi koja su značajan izvor prirodnih ksantofila koji pigmenatiraju kožu pilića. Lutein i zeaksantin glavni su ksantofili u kukuruzu i suproizvodima te ako se ne iskoriste kao antioksidansi, tada se akumuliraju u koži, potkožnoj masti, kljunu pa čak i perju peradi (McGraw i sur., 2004). Lutein je glavni karotenoid u lucerni i kadifici. Ekstrakt paprike glavni je izvor crvenih pigmenata kanaksantina i citranaksantina. Zbog visoke pigmentacijske učinkovitosti, danas se koriste sintetski apo-esteri kanaksantina i citranaksantina kao izvori crvene boje.

Boja peradarskih proizvoda mjeri se objektivno pomoću instrumenta, tzv. kolorimetra koji boju klasificira u tri dimenzije:

- L^* - mjera svjetline od crnog (0) do bijelog (100),
- a^* - mjera crvenosti od crvene (a) do zelene (-a) boje,
- b^* - mjera žutosti od žute (b) do plave (-b) boje.

Boja kože i mesa povezani su te jača boja kože znači i jaču boju mesa (Bianchi i sur., 2007). Generalno rečeno, pisak ima najveću svjetloću, slijedi abdominalna masnoća pa koža dok meso ima najmanju svjetloću. Boja sirovog prsnog mesa brojerskih pilića kreće se u široku rasponu od svijetle do tamne, što ovisi o brojnim čimbenicima kao što su spol, hibrid, hrana, pH mesa te načini prerade i skladištenja (Janisch i sur., 2011).

U Italiji se boja sirovog prsnog mesa u trgovinama kreće u rasponu od 44 do 66 pri čemu autori (Petracci i sur., 2004) uzimaju da je normalna svjetlina boja mesa $50 <L^* < 56$,

tamna kada je L^* manji od 50, a blijeda ako je iznad 56. Svjetloća mesa pokazatelj je kvalitete prsnog mesa pa je blijedo, vodnjikavo i mekano meso loše kvalitete. Može se reći da na svjetlinu mesa znatno više djeluju nehranidbeni od hranidbenih čimbenika. Žutost (b^*) jako varira te je i ona najjače izražena u boji kože nogu, a najslabije u boji mesa, dok crvenost ima obrnuti trend vrijednosti (Sirri i sur., 2010). Žutost prsnog mesa u zemaljskom se uzgoju brojlerskih pilića također kreće u široku rasponu od -3 do 12. Crvenost mesa potječe od oksidiranih spojeva mioglobina (oksimioglobina, deoksimioglobin i met-mioglobin) te hemoglobina iz kapljica krvi (Mateo-Oyagiie, 2001) i kreće se u rasponu od 0 do 13, u prosjeku 4 (Petracci i sur., 2004). Tipična boja sirovog prsnog mesa mjerena kromametrom pri normalnom pH $5,99 \pm 0,1$ svjetloće je $49, 2 \pm 1$, 42, crvenost $1,4 \pm 0,9$ i žutoće $10,3 \pm 1,3$ (Totosaus i sur., 2007; Rajput i sur., 2012). S druge strane, koža je svjetlija jer sadrži manje željeza, odnosno crvenih pigmenata te iznosi u prosjeku oko 60, a crvenost je 1 – 3, dok je žutost viša i varijabilna te se kreće u rasponu 15 – 21 (Barbut, 2002).

Svjetloća i žutost boje kože glavni su kriteriji odabira brojlerskih pilića za kupnju. Tipična svjetloća kože kreće se u rasponu 66 – 82, crvenost -3,5 – 7,52 i žutost 7,5 – 39 (Sirri i sur., 2010). Hrana, ovisno o udjelu i omjeru žutih i crvenih pigmenata, ima utjecaj na svjetlinu i crvenost kože, ali najviše utječe na žutost kože (Castaneda i sur., 2005). Pri tome Castaneda i sur. (2005) iznose da je pri istim koncentracijama uvijek jače izražena boja kože pilića hranjenih prirodnim nego sintetskim karotenoidima, što se objašnjava njihovom ravnomjernijom raspodjelom u koži. Prosječni iznosi i rasponi parametra boje kože 2300 uzoraka piska su: svjetlina je 79,96 (71,20 – 88,70), crvenost -3,47 (-7,24 – 2,57) i žutost 53,9 (24,22 – 78,65) (Sirri i sur., 2010).

Postojanost boje sirovog peradarskog mesa čuva se dodavanjem antioksidansa kao što je vitamin E u hranu iz koje se nakon apsorpcije raspoređuju po tijelu. Prerada i uvjeti skladištenja znatno mijenjaju boju kože i mesa peradi (Totosaus i sur., 2007).

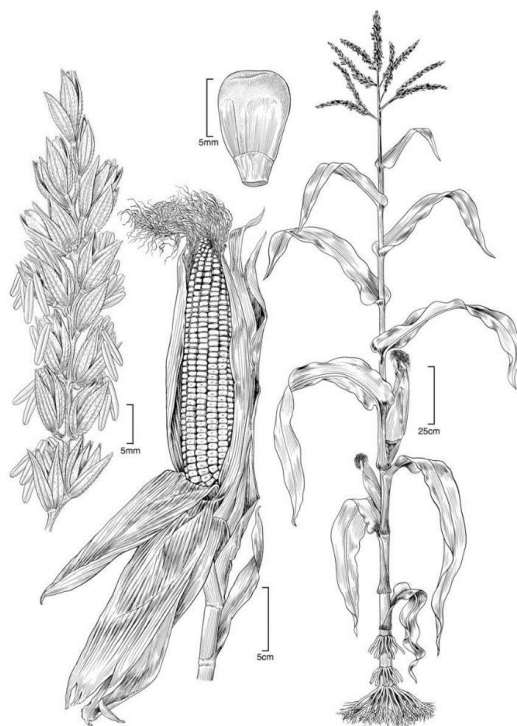
2.2. Peradarska proizvodnja

Peradarstvo zauzima značajno mjesto u ukupnoj stočarskoj proizvodnji te čini oko 7 % ukupne poljoprivredne proizvodnje, odnosno 18 % animalne proizvodnje u EU i 12,5 % u Republici Hrvatskoj. Intenzivnom proizvodnjom osigurava se oko 70 % utovljene peradi, a ostalih 30 % obuhvaća tradicijski (poluintenzivni) način uzgoja, za vlastite potrebe. Procjenjuje se da se u RH drži oko 4 421 000 pilića (Kralik i sur., 2013). Hrvatska troši 22,8 kg peradskog mesa po glavi stanovnika što je 5 % manje od EU prosjeka koji iznosi 23,9 kg/stanovniku. Svjetska potrošnja peradskog mesa raste po višoj stopi od 2,9 % od ostalih vrsta mesa (1,9 %). U Republici Hrvatskoj potroši se 95 684,8 t peradskog mesa od čega je 85 % iz vlastite proizvodnje. Za vlastitu proizvodnju peradskog mesa potrebno je, pri 58 %-tnom udjelu kukuruza u potpunim krmnim smjesama za proizvodnju pilećeg mesa i konverziji hrane od 1,7 kg/kg godišnje, oko 94 345 tona žutog kukuruza.

2.3. Proizvodnja, primjena i svojstva kukuruza

2.3.1. Proizvodnja

Kukuruz (*Zea mays L.*; slika 3) se ubraja u jednu od najznačajnijih kultiviranih biljnih vrsta u svijetu gdje se od njega dobiva preko 1300 proizvoda (Almaši i sur.,2002). Zemljopisno gledano, potječe iz Srednje Amerike, današnje područje Meksika te se smatra da je njegova domestikacija započela prije 8 000 – 10 000 godina, a u Europu je stigao u 16. stoljeću, nakon Kolumbova otkrića Amerike (Troyer, 1999). U prostor današnje Hrvatske došao je preko Venecije u priobalno te preko Osmanskog carstva u kontinentalno područje.



Slika 3. Biljka kukuruza

Izvor: http://mmnh.typepad.com/the_plant_press

Svjetska proizvodnja kukuruza je 1037 869 400 tona (USDA, FASS Grain, 2017), dok je EU proizvela 64 milijuna tona ili 7 % globalne proizvodnje. Po proizvedenim količinama kukuruz je iza pšenice i ječma u EU, dok je kukuruz prva žitarica u RH i proizvedeno je 1 70 000 t/2017 (Eurostat, 2018), što nas svrstava među sedam najvećih proizvođača kukuruza u EU. Dok je u SAD-u 90 % proizvedenog kukuruza iz genetski preinačenih hibrida, u EU to je samo 2 %. Dodatno, Hrvatska je značajni europski proizvođač sjemenskog kukuruza. Proizvodnja sjemenskog kukuruza je oko 3500 tona od čega se znatan dio izvozi (Kozić, 2018, osobna informacija). Procjenjuje se da se u EU proda sjemenskog kukuruza u vrijednosti od 1,6 milijardi eura. Proizvodnja vlastitog sjemena kukuruza omogućuje stvaranje hibrida s povišenim sadržajem koji su namijenjeni proizvodnji žutog kukuruza za perad.

2.3.2. Sadržaj karotenoida u žutom kukuruзу

Kao što je već spomenuto, među žitaricama, kao najzastupljenijim krmivima u hrani brojerskih pilića, samo žuti kukuruz sadrži značajnije količine karotenoida. Zrno žutog kukuruza u prosjeku sadrži od 11 – 30 mg/kg ukupnih karotenoida (Moros i sur., 2002), dok Bc hibridi sadrže u prosjeku 22,8 mg/kg, što je više od prosjeka u hibridima SAD-a i Francuske (Grbeša, 2016). Na sadržaj karotenoida u zrnu kukuruza utječu brojni čimbenici kao što su genotip, stadij zrelosti zrna, način proizvodnje i skladištenja (Prado i sur., 2014). Sadržaj karotenoida prilično je stabilan unutar hibrida i malo varira u optimalnim uvjetima između geografskog položaja i uvjeta uzgoja. Među okolišnim uvjetima koji unutar genetskih granica stimuliraju više koncentracije karotenoida su gnojdba i gustoća sjetve. Gnojdba u pravilu povisuje, no previsoke doze ureje smanjuju sadržaj karotenoida. Sadržaj molibdena među mikroelementima najviše povisuje sadržaj karotenoida, no najbolji način povišenja sadržaja karotenoida u zrnu kukuruza je rijetka sjetva. Međutim, najveći utjecaj ima genotip (Alfieri i sur., 2014) te kako je visokonasljedan, selekcijom se može višestruko uvećati ili smanjiti pa su tako selekcijom stvorene viskokokarotenoidne linije kukuruza koje sadrže 50 do 101 mg/kg ST karotenoida kao i linije bijelog zrna bez karotenoida (Kean i sur., 2008; Burt i sur., 2011).

S obzirom na to da su karotenoidi termolabilni i osjetljivi na svjetlo, njihova koncentracija u zrnu kukuruza vremenski opada s obzirom na skladišne uvjete, sastav karotenoida te fiziološkim i kemijskim odlikama hibrida kukuruza (Jun Ye, 2011).

Između kultivara kukuruza postoje velike razlike u sadržaju, kako ukupnih, tako i pojedinih karotenoida, što je osnova za proizvodnju hibrida povišenog sadržaja jednog ili više karotenoida. U prosjeku hibridi kukuruza sadržavaju uobičajenih 10 puta više luteina i zeaksantina nego β -kriptoksantina i β -karotena. Međutim, omjer luteina i zeaksantina znatno varira između hibrida. U kukuruзу postoje tri tipa nasljeđivanja sadržaja luteina i zeaksantina: (1) više luteina : manje zeaksantina, (2) više zeaksantina : manje luteina, (3) sličan omjer luteina i zeaksantina. U prosjeku Bc hibridi kukuruza sadrže (mg/kg ST) najviše luteina (14,15), zatim zeaksantina (10,04) te β -kriptoksantina (1,78) i najmanje ima (0,88) β -karotena (Grbeša, 2016). Naravno, sukladno genetskom *backgroundu*, postoji velika razlika između sadržaja pojedinih karotenoida pa tako BC 572 ima najmanje (5,98 mg/kg ST), a BC 4782 najviše (21,44 mg/kg ST) luteina. Suprotno je sa zeaksantinom koji među Bc hibridima najviše (17,17 mg/kg ST) sadrži BC 572.

2.3.3. Boja zrna

Zrno kukuruza sadrži karotenoide i fenole koji mu daju, ovisno o vrsti, sadržaju i smještaju, vrlo različite boje, od bijele, preko narančaste do ljubičaste (slika 4).

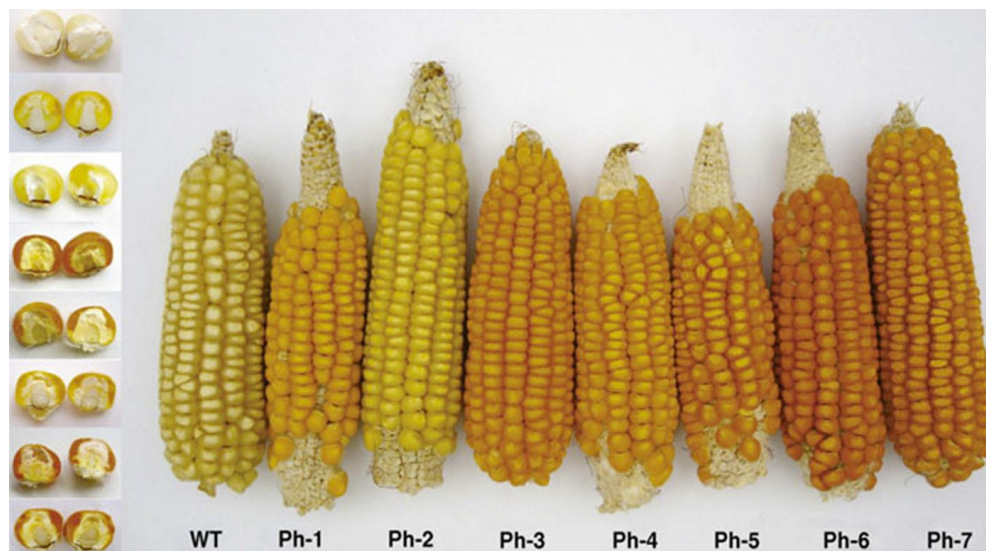


Slika 4. Boja zrna divljih tipova kukuruza

Izvor: <http://biologicalexceptions.blogspot.hr/2015/11/corn-color-concepts.html>

Skupina fenola, antocijanini, nalaze se u slobodnoj formi i daju crvenu do tamno ljubičastu boju zrnju. Ostali fenoli, točnije fenolne kiseline, najčešće su vezane i smještene u klici, endospermu i perikarpu (Arnason i sur., 1992) te daju zrnju crvenkastu boju. Međutim, boja zrna komercijalnih hibrida kukuruza najviše je vezana uz karotenoide te se kreće u široku rasponu od bijele do narančaste (slika 5). Kako zrno kukuruza sadrži najviše ksantofila, tako oni dominantno određuju boju zrna kukuruza. Kao što je već spomenuto, lutein je karotenoid koji ima žuta, zeaksantin svjetlonarančasta, a β -kriptoksantin i β -karoten narančasto-crvena pigmentacijska svojstva, dok fenoli daju crvenu boju omotaču zrna.

Žutost je najvažniji parametar boje zrna kukuruza zbog pozitivne povezanosti sa sadržajem karotenoida i bojom potkožne masti peradi. Ona je u visokoj korelaciji sa sadržajem luteina i zeaksantina te ukupnih karotenoida (Lozano-Alejo i sur., 2007). Među Bc hibridima odličan je izvor žute boje BC 462, a crvene Pajdaš koji sadrži fenolne spojeve u perikarpu i ima najtamniju nijansu boje. U prosjeku, svjetlina Bc hibrida kukuruza to je veća, što je manja žutost i crvenost. Tako je prosječna svjetlina Bc hibrida kukuruza 88,63, ali se kreće u široku rasponu i iznosi 84,49 za blijeda zrna BC 394 i čak 91,97 za crvena zrna Pajdaš. Žutost kao najvažnija komponenta boje zrna iznosi 34,79 za prosjek Bc hibrida i najniža (28,19) je u hibrida BC 354, a najviša (38,60) u BC 462 (Grbeša, 2016).

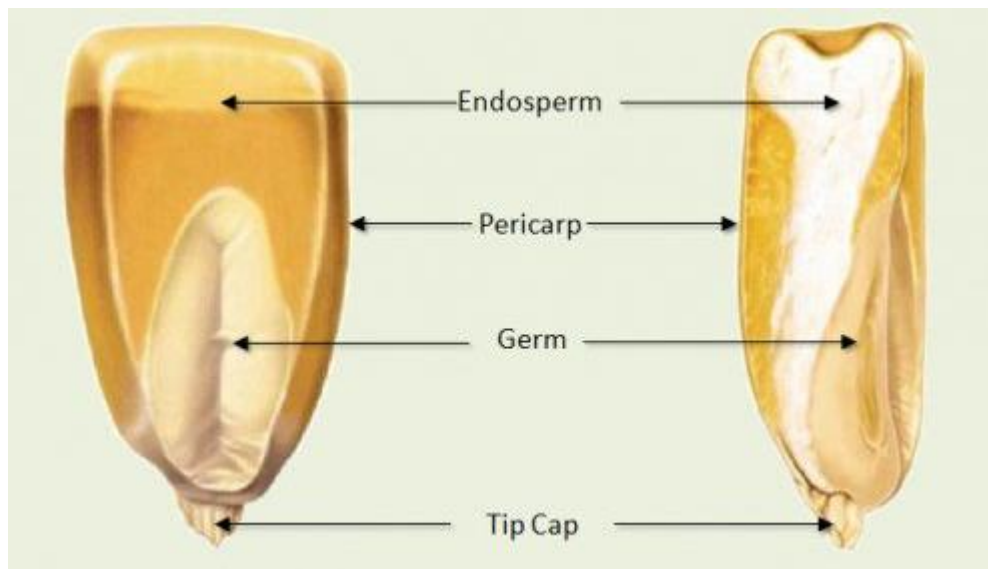


Slika 5. Boja endosperma kukuruza s različitim genima za sintezu karotenoida
Izvor: Zhu et al., 2008

2.3.4. Smještaj karotenoida u zrnu kukuruza

Zrno kukuruza građeno je od četiriju glavnih morfoloških dijelova čiji sastav i građu moramo poznavati da bismo mogli razumjeti hranidbenu vrijednost i pigmentacijska svojstva zrna kukuruza. Među žitaricama, zrno kukuruza najbogatije je fitonutrijentima kao što su fenoli, karotenoidi, tokoferoli i tokotrienoli, rezistentni škrob i sitosteroli (Grbeša, 2016). Gledano po dijelovima zrna (slika 6), u suhom stanju drška (tip cap) čini 1 % mase i ne sadrži fitonutrijente, omotač (pericarp) je 5 % mase zrna i bogat je fenolima i niskim udjelom karotenoida, klica (germ) sudjeluje s 11 % u zrnu i bogata je vitaminom E te sadrži nešto karotenoida. Najveći udio od 83 % karotenoida zrna smješteno je u endospermu (Ndolo i Trust, 2013). Endosperm zrna kukuruza s obzirom na građu i sastav može biti caklavi i brašnasti te prema njihovu udjelu u zrnu razlikujemo tvrdunce, polutvrdunce, zubane i kvalitetne zubane kukuruza (Grbeša 2016). Caklavi endosperm sadrži najveći dio (75 –86 %) karotenoida zrna žutog kukuruza. Bc hibridi kukuruza imaju znatno višu prosječnu caklavost (63,2 %) od američkih (48,2 %) i nižu od brazilskih (73,1 %) hibrida kukuruza pa je za očekivati da imaju i viši sadržaj karotenoida (Correa i sur., 2002; Grbeša, 2016).

U prosjeku, Bc hibridi kukuruza imaju svjetloću od 88,68, ali se ona kreće u široku rasponu od 84,49 za BC 394 pa do čak 91,97 za Pajdaš. Prosječna crvenost je -0,13 pri čemu najmanju ima hibrid BC 354, a najvišu Pajdaš. Žutost je najbolje izražena u BC 462 i iznosi 38,60, dok je prosjek 34,73 (Grbeša 2016).



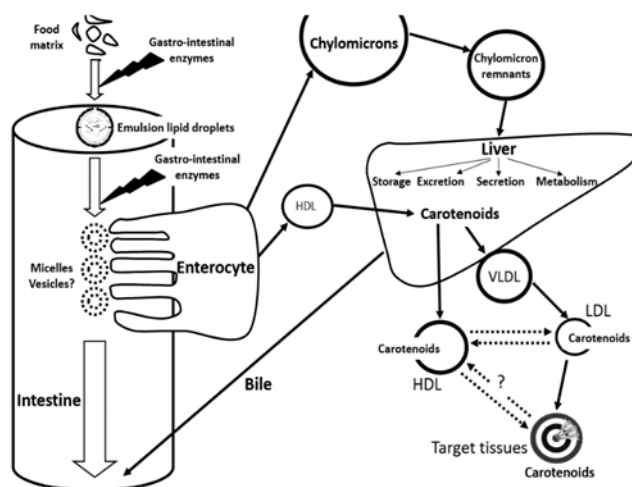
Slika 6. Građa zrna kukuruza

Izvor: <https://hubpages.com/health/Why-Pop-corns-Pop>

U endospermu je najveći dio (98 %) karotenoida vezan sa zeinom pa njemu i zrnu (slika 5.) daje žuto-narančastu boju (Blessin i sur., 1963). Zein je glavni skladišni protein kukuruza koji obavlja granule škroba. On je po svojoj topljivosti slabo topljiv, a time i slabije probavljiv (Flipot i su., 1971), što limitira otpuštanje u njemu „zarobljenih“ karotenoida. Stoga koncentracija zeina u zrnu kukuruza, pored sadržaja karotenoida, znatno utječe na otpuštanje karotenoida, a time i na njihova pigmentacijska svojstva.

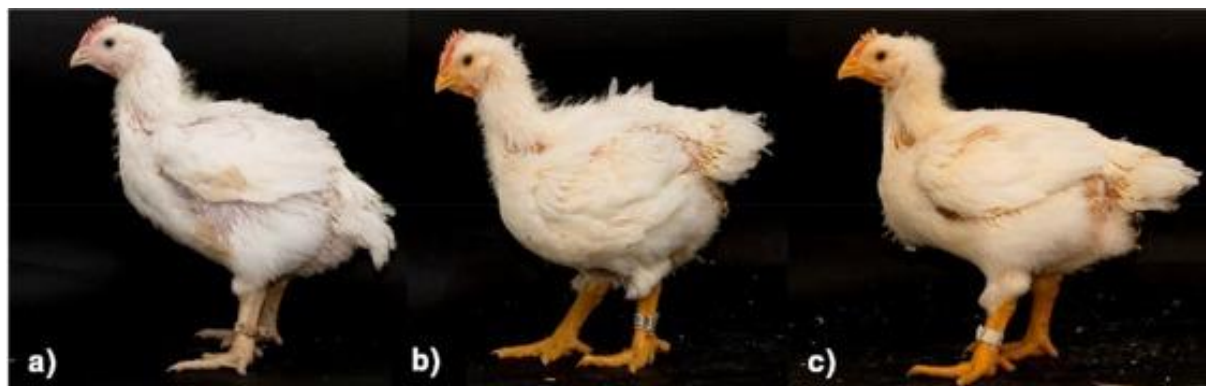
2.3.5. Biodostupnost karotenoida

Učinkovitost karotenoida u bojenju i zaštiti animalnog tkiva ovisi o sadržaju i biodostupnosti karotenoida hrane. Prema Rodriguez-Amaya (2010), biodostupnost mjeri koliko je od količine pojedenih karotenoida zadržano u životinji i kao složeni proces ovisi o tri grupe čimbenika: (1) vrste i količine karotenoida u krmivu i obroku, (2) matrici hrane u kojoj su smješteni karotenoidi te prerade hrane (mljevenje) koja povisuje ili smanjuje njihovu dostupnost, i (3) od procesa apsorpcije koji ovisi o tipu lipida i lecitina u probavilu te zdravlja probavnog sustava (odsutnost mikotoksina). Prvi je stupanj biodostupnosti oslobođenje karotenoida iz matrice hrane u čemu najviše pomaže mljevenje i žvakanje hrane (Grundy et al., 2016). Oba procesa razaraju tkivo zrna kukuruza i dijela stanične stijenke, što izlaže komplekse karotenoida i zeina te ulja procesu probave, odnosno hidrolize u crijevima životinja (Desmarchelier i Borel, 2017). Zatim se lipofilni karotenoidi emulzificiraju lipidima u sitne čestice koje se ugrađuju u micle i kao takve apsorbiraju u tankom crijevu, gdje se u enterocitima dio transformira u retinol (vitamin A). Najveći dio zeaksantina apsorbira se u ileumu, dok se lutein apsorbira u duodenumu i jejunumu (Tyczkowski i Hamilton, 1986). Nakon apsorpcije oni se ugrađuju u kolomikrone i možda u HDL i takvi isporučuju u limfu i iz nje krvlju u jetru (slika 7). Iz jetre se karotenoidi raspoređuju po svim tkivima, oko 80 % karotenoida zadrži se u masnom tkivu, a 10 % u jetri. U koži se zadržavaju ksantofili, uglavnom lutein (Desmarchelier i Borel, 2017).



Slika 7. Shema apsorpcije karotenoida
Izvor: Desmarchelier i Borel, 2017.

Karotenoidi koji imaju višu učinkovitost deponiranja sudjeluju više u boji peradi pigmentacije (slika 8). U kokoši nesilica ksantofili imaju viši koeficijent deponiranja u jaja (oko 28 %) nego β -karoten i β -kriptoksantin (8 – 12 %) pa time uz viši udio u hrani, više doprinose boji jaja, a vjerojatno i kože (Kljak i sur., 2018; neobjavljeni podaci).



Slika 8. Boja nogu pilića hranjenih visokokarotenskim kukuruzom
Izvor: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840117304200>

3. Materijali i metode

3.1. Pokus

Istraživana razlika između hibrida u bojenju kože, mesa i piska pilića provedena je eksperimentalnim planom *slučajni blok raspored*. U pokusu je 325 jednodnevnih Ross 308 (Aviagen) hibridnih pilića nasumično podijeljeno u 25 boksova, s time da je u svakom boksu bilo 13 pilića. Pilići su hranjeni hranom koja je sadržavala jedan od pet istraživanih hibrida kukuruza; četiri od Bc Instituta (BC 572, Riđan, Kekec i Mejaš) te jedan kontrolni hibrid stranog proizvođača sjemena najzastupljenijeg u RH (tablica 1).

Tablica1. Raspored hranidbenih tretmana (hibrida) po boksovima

1.	BC 572	13.	Kekec
2.	Kontrola	14.	Kontrola
3.	Riđan	15.	BC 572
4.	Mejaš	16.	BC 572
5.	Kekec	17.	Kontrola
6.	Kontrola	18.	Mejaš
7.	BC 572	19.	Riđan
8.	Mejaš	20.	Kekec
9.	Kekec	21.	Mejaš
10.	Riđan	22.	BC 572
11.	Riđan	23.	Kekec
12.	Mejaš	24.	Kontrola
		25.	Riđan

Jednodnevni pilići dopremljeni su iz valionice „Hrašćanec“ iz Koprivnice i smješteni u pokusni peradnjak Zavoda za hranidbu životinja Agronomskog fakulteta u Zagrebu (slika 9). Nakon deset dana pokusa odstranjeni su iz svakog boksa najteži i najlakši pilići. Ukupan tov s 275 pilića trajao je 32 dana, započevši 19. travnja 2017. godine.



Slika 9. Pokusni boksovi

Izvor: Kljak, 2017.

3.2. Kukuruz

Istraživani hibridi kukuruza proizvedeni su 2016. godine na pokusnom polju Bc Instituta u Rugvici. Svojstva hibrida prikazana su prema navodima proizvođača sjemena Bc Instituta, Zagreb.

- **Kekec – FAO 330, polutvrđunac**
Hibrid visoke kvalitete te je zbog svojeg ranog porasta pogodan za ranije rokove sjetve. Tamnozeleno boje lista sa srednje velikim nisko nasađenim klipom. Podnosi gušći sklop pa je iz tog razloga pogodan za intenzivnu agrotehniku. Zrno je u tipu polutvrđunca.
- **Mejaš – FAO 450, kvalitetan zuban**
Srednje visoke, vrlo čvrste stabljike koja se odlikuje vrlo izraženim „*stay green*“ efektom. Pogodan za proizvodnju zrna i silaže. Zrno mu je u tipu zubana izrazite kvalitete. Odlikuje ga tolerancija prema stresnim uvjetima.
- **BC 572 – FAO 500, kvalitetan zuban**
Tolerantan na sušu, izrazito čvrste stabljike, brzo otpušta vodu iz zrna. Zrno mu je izrazite kvalitete te se iz tog razloga, osim za hranidbu stoke, koristi i za prehranu ljudi.

- **Riđan – FAO 610, kvalitetan zuban**

Srednje visoka, čvrsta stabljika, s krupnim klipom. Pogodan za silažu stabljike i klipa, s vrlo stabilnim prinosima u različitim agroekološkim uvjetima. Odlikuje ga odličan omjer uroda i kvalitete zrna.

Hibridi su proizvedeni sljedećom agrotehnikom. Godine 2015., prije osnovne obrade tla, izvršena je osnovna gnojidba s 200 kg/ha NPK 7-20-30 mineralnog gnojiva te 200 kg/ha PRP soli koja služi kao poboljšivač tla. Nakon gnojidbe izvršena je duboka jesenska obrada tla na dubinu od 30 –35 cm oranjem. Predsjetvena gnojidba u proljeće 2016. godine izvršena je sa 150 kg/ha UREA i 200 kg/ha 15-15-15 NPK mineralnog gnojiva. Zaštita usjeva od korova bila je izvršena *pre em*, koristeći herbicid aktivnih tvari terbutilazin, mezotrion i s-metolaklor (Lumax, Syngenta) doze 4 l/ha, uz utrošak vode od 250 l/ha. Njega i prihrana usjeva izvršena je u dva navrata kultiviranjem, prilikom kojeg se svaki put utrošilo 150 kg/ha KAN mineralnog gnojiva.

Berba kukuruza izvršena je u klip, strojno kombajnom marke „Burgon“, nakon čega se kukuruz sušio u klip na temperaturi 32– 35 °C do skladišne vlage ispod 14 %. Klip kukuruza strojno je okrunjen te uskladišten u „jumbo“ vreće u kojima je transportiran do mješaone stočne hrane „Kušić-promet“ iz Zeline.

Istraživani hibridi kukuruza bili su dio rada Janeš (2017), gdje je određen sadržaj svih pojedinačnih i ukupnih karotenoida. S obzirom da je istraživana povezanost sadržaja karotenoida i boje mesa, masti, kože i piska pilića, vrijednosti su prikazane u tablici 2.

Tablica 2. Prosječni sadržaj karotenoida u istraživanim hibridima kukuruza (µg/g ST; Janeš, 2017.)

Hibrid	Lutein	Zeaksantin	β-kriptoksantin	β-karoten	Ukupni
BC 572	6,21	16,65	2,79	2,90	28,55
Kekec	9,40	9,78	1,38	1,87	22,42
Mejaš	10,88	9,64	1,71	2,41	24,63
Riđan	12,27	7,62	1,26	1,94	23,09
Kontrola	8,73	9,85	1,31	2,56	22,45
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

3.3. Hranidba

Pilići su hranjeni potpunim krmnim smjesama koje zadovoljavaju hranidbene preporuke za hibrid Ross 308 za završnu težinu pilića 2,5 – 3,0 kg, (Nutrition specifications, 2014). Prema Ross 308 normativima, pilići su hranjeni s tri potpune krmne smjese: početnom krmnom smjesom od 0 do 10 dana starosti koja sadrži najmanje 12,55 MJ ME/kg i 23 % SP (starter), potpunom krmnom smjesom za rast pilića od 10 do 24 d koja sadrži najmanje 12,7 MJ ME/kg (grover) te 21 % SP i završnom potpunom krmnom smjesom za završni tov pilića koja sadrži 13,39 MJ ME/kg i 19 % SP (finišer). Sirovinski sastav krmnih smjesa prikazan je u tablici 3.

Tablica 3. Sirovinski sastav i kalkulatívna hranjivost potpunih krmnih smjesa za tov brojlerskih pilića

Krmiva	Dani tova		
	0-9	10-24	25-32
	%		
Kukuruz	56,00	58,00	62,00
Sojina sačma	38,00	35,20	31,80
Ulje suncokreta	2,00	3,00	3,00
Vapnenac	1,50	1,40	1,25
Mono CaP	1,30	1,25	1,00
Sol	0,30	0,40	0,40
Metionin	0,20	0,15	0,05
Lizin	0,15	0,10	0,00
Treonin	0,05	0,00	0,00
Premiks	0,50	0,50	0,50
Ukupno	100,00	100,00	100,00
Kalkulativni sastav			
Metabolička energija za piliće, MJ	12,55	12,80	13,20
Sirovi protein, g/kg	230,0	215	195
Lizin, g/kg	13,2	12,5	11,0
Metionin+cistin, g/kg	10,9	10,0	9,0
Metionin, g/kg	5,8	5,5	4,5
Kalcij, g/kg	10,0	8,7	8,0
Fosfor iskoristivi, g/kg	5,0	4,7	4,1
Natrij, g/kg	1,8	2,0	2,1

U tablici 4. prikazan je sastav premiksa za piliće u tovu koji je sadržavao manje od preporučenih količina vitamina A, a smjesama su dodani organopleksi mikroelemenata TNT™ Poultry Pack od Alltech, Nicholasville, USA te kokcidiostatik samo u prve dvije smjese.

Tablica 4. Sadržaj dodanih vitamina i organopleksa mikroelemenata u krmne smjese

Vitamins	Količina	Mikroelementi-Biopleksi mg	
Vitamin A, Ij	10000	Biopleks Zn,	30
Vitamin D, Ij	5000	Biopleks Mn,	30
Vitamin E, mg	80	Biopleks Cu,	7,5
Vitamin K, mg	3	Biopleks Fe	7,55
Vitamin B1, mg	3	SelPleks	1,35
Vitamin B2, mg	9	Jod	2,25
Vitamin B6, mg	4	Kokcidiostatik	+++
Vitamin B12, mg	20		
Pantotenska kiselina, mg	12		
Nikotin amid, mg	60		
Folna kiselina, mg	2		
Biotin, mg	150		
Kolin, mg	500		

Sve su krmne smjese analizirane u laboratoriju Zavoda za hranidbu životinja Agronomskog fakulteta u Zagrebu, a njihov kemijski sastav prikazan je u tablici 5.

Tablica 5. Sadržaj vlage sirovog pepela (SPe), sirovog proteina (SP), masti, škroba, šećera i makroelemenata starter, grover i finiše krmnih smjesa po hranidbenim tretmanima koji se razlikuju samo po hibridu kukuruza

	Vlaga	SPe	SP	Mast	Šećer	Škrob	Ca	P	Na
Smjesa	g/kg								
Starter (0-9 dan)									
BC 572	100	57	231,7	50	46,2	340,1	9,2	5,2	1,6
Kekec	96	55	223,4	50	50,3	326,9	9,1	5,1	1,6
Mejaš	97	59	229,9	50	45,5	337,4	10,0	5,2	1,7
Riđan	96	61	224,5	50	52,3	345,4	11,0	5,3	1,6
Kontrola	107	59	231,5	44	43,0	355,1	10,1	5,2	1,8
Grover (10-24 dan)									
BC 572	108	60	231,2	53	42,4	319,4	9,5	6,1	1,3
Kekec	107	55	223,5	51	39,9	338,2	9,4	5,5	1,1
Mejaš	105	56	221,5	41	42,8	367,6	9,6	5,3	1,2
Riđan	105	57	222,1	56	45,5	335,7	9,1	5,5	1,3
Kontrola	112	59	221,2	46	43,3	323,7	10,2	5,4	1,3
Finišer (25-32 dan)									
BC 572	105	51	204,2	38	39,0	398,3	9,1	5,1	1,1
Kekec	103	53	212,1	46	40,8	361,7	9,3	5,4	1,1
Mejaš	102	54	210,3	43	40,7	367,6	9,9	5,6	1,4
Riđan	101	53	203,8	41	41,2	370,7	9,4	5,3	1,3
Kontrola	117	56	205,8	41	43,1	351,1	9,3	5,3	1,6

Prilikom završetka 32 dana tova, pet pilića iz svakog boksa humano je žrtvovano. Iz rasječenih trupova odvojeno je meso i koža prsa, abdominalna masnoća i koža piska. Boja svih dijelova prema CIE L*a*b* određena je nakon 24 sata hlađenja kolorimetrom Minolta Chroma-meter (CR-410, Konica Minolta, Japan; slika 10).



Slika 10. Chroma-meter CR-410 kolorimetar.
Izvor: Janeš, 2017.

3.4. Određivanje boje zrna prema CIE L*a*b*

Boja zrna također je određena prema CIE L*a*b* sustavu. Za potrebe određivanja boje, zrno kukuruza samljeveno je u mlinu Cyclotec na veličinu čestica do 1 mm. Homogeni uzorci zrna kukuruza pritisnuti su u Petrijevu zdjelicu promjera 7 cm s optički prozirnim dnom, a pomoću posude manjeg promjera izravnata je površina uzorka. Svi uzorci mjereni su u triplikatu, a kao rezultat uzeta je njihova srednja vrijednost.

3.5. Statistička obrada podataka

Parametri boje prema CIE L*a*b* zrna kukuruza istraživanih hibrida obrađeni su kombiniranom analizom varijance s hibridom kao efektom. Hranidbeni pokus s ukupno pet tretmana bio je postavljen po shemi slučajnog blok rasporeda u pet ponavljanja, a rezultati boje kože, potkožne masti i piska ispitani su kombinacijom varijance s tretmanom kao fiksnim efektom. Statistička obrada podataka provedena je PROC MIXED i PROC CORR procedurama statističkog paketa SAS 9.3 (Statistical Analysis System, 2011). Razlike su smatrane značajnima ukoliko je $P \leq 0,05$. Sve vrijednosti prikazane u grafikonima su LS means, dobivene korištenjem PDIF naredbe.

4. Rezultati i rasprava

Istraživanje pigmentacijskih svojstva kvalitetnih zubana Bc Instituta u tovu brojlerskih pilića provedeno je krmnim smjesama koje nisu sadržavale dodanu boju niti druga krmiva, osim kukuruza, koja sadrže karotenoide (tablica 2).

Brojlerski pilići hranjeni su s tri potpune krmne smjese koje zadovoljavaju hranidbene potrebe Ross 308 pilića. Početna i smjesa za rast sadržavale su dovoljne količine sirovog proteina, lipida, škroba, Ca, P i Na, dok je završna smjesa sadržavala SP samo nešto više od potreba. U sve smjese dodano je 10000 IU/kg hrane vitamina A (tablica 4). Nadalje, u smjesama su kao izvori mikroelementa korišteni organopleksi koji su kemijski interni pa ne razaraju karotenoide kao što to rade anorganske soli mikroelemenata.

Pigmentacijska svojstva zrna komercijalnih hibrida kukuruza određuju sadržaj karotenoida, prvenstveno ksantofila te u manjoj mjeri fenola. Kako su karotenoidi dominantno smješteni u caklavom endospermu (Ndolo i Trust, 2013; Kljak i Grbeša, 2014), istraživanje je provedeno s hibridima u tipu kvalitetnih zubana i polutvrduca koji sadrže više caklavog endosperma, a time i više karotenoida. Prema Grbeši (2016), istraživani hibridi sadrže preko 62 % caklavog u ukupnom endospermu. Stoga je sadržaj karotenoida u Bc hibridima za 2 mg veći od stranog polutvrduca (tablica 2), kao i od najboljih talijanskih komercijalnih linija (Farre i sur., 2011). BC 572 sadrži najviše karotenoida među istraživanih šest polutvrduca (tablica 2), što ga čini pogodnim za hranidbu peradi.

Ksantofililutein i zeksantin dominantni su (85,29 %) među karotenoidima istraživanih hibrida, što se slaže s rezultatima drugih autora (Hulshof et al., 2007; Kurilich i Juvik, 1999). Među istraživanim hibridima, BC 572 sadrži najviše ksantofila i posljedično najviše karotenoida. Nadalje, hibridi se razlikuju po sadržaju luteina i zeaksantina pa tako BC 572 sadrži 2,7 puta više zeaksantina od luteina, dok Riđan sadrži 1,6 puta više luteina od zeaksantina. Takav obrnuti omjer u sadržaju zeaksantina i luteina uzrokovan je genotipom koji određuje sintezu enzimatskog puta za znatno veću tvorbu jednog ili drugog karotenoida (Guliano, 2014).

4.1. Boja zrna kukuruza prema CIE L*a*b*

Mjerenje parametara boje kromametrom jednostavni je i brzi postupak koji upućuje na sadržaj karotenoida i dobro ga predviđa (Kljak i sur., 2012) u kukuruзу, a time predviđa i potencijalnu boju pilića hranjenih tim kukuruzom. Vrijednosti parametara boje prema CIE L*a*b* zrna istraživanih hibrida kukuruza prikazane su u tablici 6.

Tablica 2. Parametri boje prema CIE svjetline (L^*), crvenosti (a^*) i žutosti (b^*) istraživanih hibrida kukuruza

Hibrid	Svjetlina (L^*)	Crvenost (a^*)	Žutost (b^*)
BC 572	83,52b	0,85a	34,65b
Kekec	82,59c	-0,21b	35,48ab
Mejaš	84,13b	-0,05b	36,66a
Riđan	84,28b	-0,60c	34,65b
Kontrola	86,34a	-0,53c	28,05c
P	<0,001	<0,001	<0,001

^{abcd}Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima značajno se razlikuju; $P \leq 0,05$

Istraživani hibridi razlikovali ($P < 0,001$) su se po svjetlini, crvenosti i žutosti prema CIE L*a*b* metodi. Raspon vrijednosti svjetline ispitivanih hibrida kukuruza bio je od 82,59 do 86,34 pri čemu je Kekec bio najtamniji ($P < 0,01$), a kontrolni hibrid najsvjetliji ($P < 0,001$). Dobivene vrijednosti slažu se s podacima Kljak i sur. (2012) čiji je raspon vrijednosti ovog parametra boje za 18 istraživanih hibrida bio od 78,81 do 87,29. Po crvenosti se ističe ($P < 0,001$) BC 572 kao najcrveniji hibrid, ujedno i hibrid najvišeg sadržaja zeaksantina, β -kriptoksantina i β -karotena (tablica 2). Raspon vrijednosti žutosti istraživanih hibrida kretao se od 28,05 (kontrolni hibrid) do 36,66 (Mejaš), što je u rasponu vrijednosti koje su objavili Kljak i sur. (2009; 2012) od 29,89 do 40,07. U prosjeku su Bc hibridi bili tamniji i žući od kontrolnog hibrida.

4.2. Boja prsnog mesa

Cilj istraživanja je utvrditi postojanje razlike između hibrida kukuruza u bojenju kože, piska, prsnog mesa i abdominalne masnoće brojerskih pilića. Boja mesa kompleksno je svojstvo koje je rezultat djelovanja više čimbenika među kojima je i sadržaj karotenoida u hrani za piliće. Slike pokazuju vidljivu razliku u boji kože i piska između pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza (slika 13, 14 i 15).



Slika 13. Boja kože mesa, mesa, abdominalne masnoće i piska pilića hranjenim hibridom BC 572.

Vlastiti izvor



Slika 14. Boja kože mesa, mesa, abdominalne masnoće i piska pilića hranjenim kontrolnim hibridom.

Vlastiti izvor

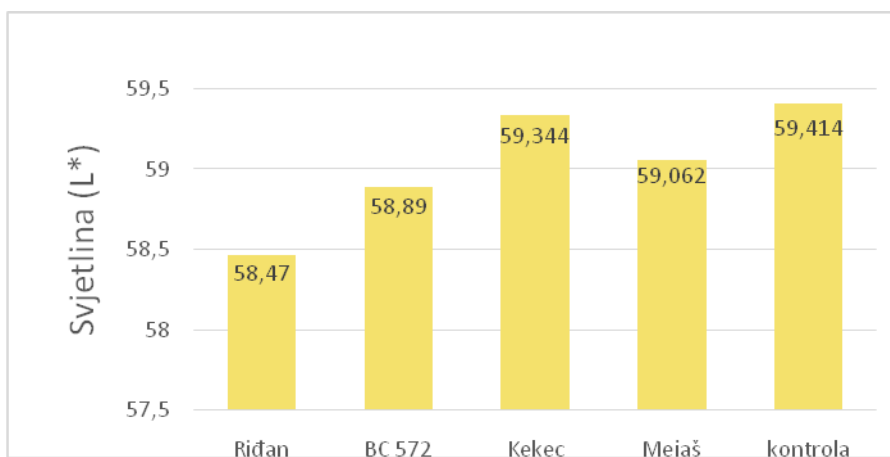


Slika 15. Boja kože mesa, mesa, abdominalne masnoće i piska pilića hranjenim hibridom Mejaš.

Vlastiti izvor

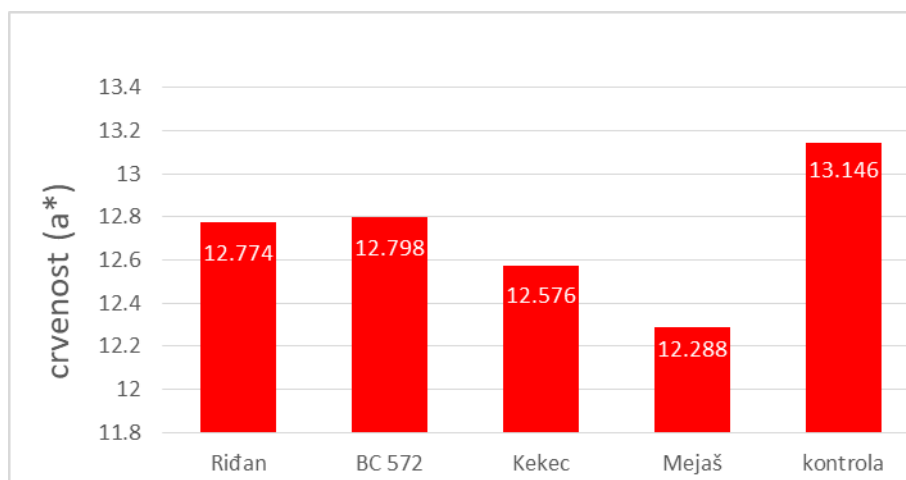
Svjetlina sirovog prsnog mesa kretala se unutar uskog raspona od 1 jedinice (58,47 – 59,4) (grafikon 1), što se slaže s rezultatima drugih istraživanja (Fletcher i sur., 2000). Meso prsa pilića hranjenih Bc hibridima kukuruza u kategoriji je bijelih mesa jer je imalo $L > 50$ koji Allen i sur. (1998) uzimaju kao kriterij za normalnu svjetlinu bijelog prsnog mesa. Istraživani hibridi dali su normalnu svijetlu boju bijelom mesu, međutim ono je bilo tamnije boje od potkožne masti, kože i kože piska zato što je meso građeno od mišića tipa 1, višeg sadržaja crvenih pigmenata, ponajviše od oksimioglobulina i drugih reduciranih formi mioglobina, te u manjoj

mjeri od hemoglobina krvi (Macini, 2009). Isto tako, svjetlina mesa ovisi i o *post-mortem* promjenama u mesu (Mancini, 2009). Porast glikolitičke aktivnosti promovira, preko proizvodnje mliječne kiseline, kiselost i bljedocu mesa (Juncher i sur., 2001). Prema tome, hibrid kukuruza nije imao utjecaj na svjetlinu mesa jer je ona jače određena drugim nehranidbenim čimbenicima kao što su spol, dob, metode prerade i osobito pH mesa (Fletcher i sur. 2000; Froning, 1995). Prema Janisch i sur. (2011), sirovo prsno meso mladih žrtvovanih pilića ima višu svjetloću od istih starijih pilića, što objašnjava visoku svjetloću prsnog mesa u ovom istraživanju.



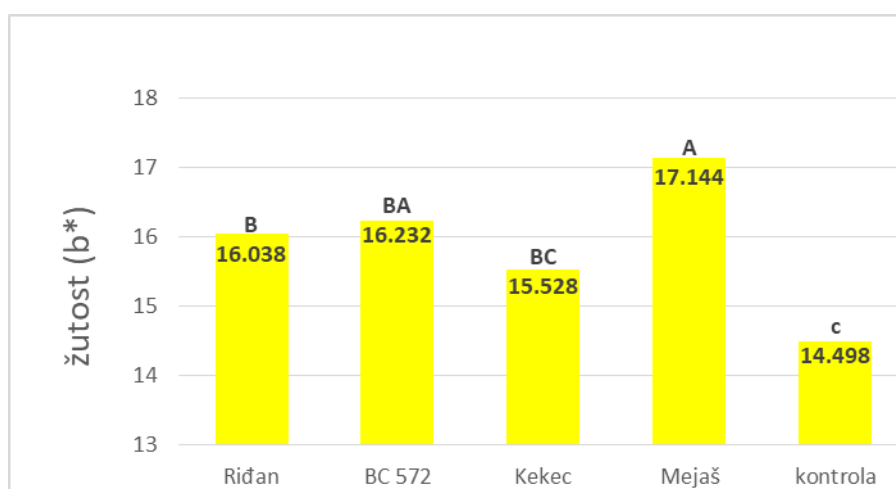
Grafikon 1. Svjetlina mesa brojlerskih pilića hranjenih Bc hibridima kukuruza

Crvenost sirovog prsnog mesa nije se razlikovala ($P < 0,001$) između pilića hranjenih hibridima kukuruza različitog sadržaja karotenoida (grafikon 2). Naime, hibridi kukuruza sadrže vrlo malo crvenog pigmenta (β -kriptoksantina), u prosjeku $1,3 \mu\text{g ST}$, a sirovo meso relativno puno „crvenih“ pigmenata od zaostale krvi. Parametri boje mjereni su 24 sata nakon žrtvovanja te se visoka crvenost sirovog prsnog mesa dobivena u ovom istraživanju može povezati s nedovoljnim vremenom za iskrvljenje mesa, odnosno mogućeg visokog sadržaja željeza. Kao i svjetlina, i crvenost sirovog prsnog mesa kretala se u uskom rasponu od 12,7 do 13,1, što su utvrdili i Flecher i sur. (2000). Crvenost je bila srednje jaka ($r = -0,41$; $P < 0,05$) i negativno povezana sa svjetlinom mesa.



Grafikon 2. Crvenost (a*) mesa brojlerskih pilića hranjenih Bc hibridima kukuruza

Žutost sirovog prsnog mesa brojlerskih pilića razlikovala se između tretmana, pri čemu je najveća bila u pilića hranjenih hibridom Mejaš, a najmanja kod pilića hranjenih kontrolnim hibridom (grafikon 3). Postoji tendencija povezanosti dnevnog unosa karotenoida i žutosti prsnog mesa ($r = 0,34$; $P < 0,1$), pri čemu se dobra boja kod Mejaša može objasniti visokim i osobito sličnim sadržajem žutog luteina i svjetlonarančastog zeaksantina (tablica 2) te visokim sadržajem α -tokoferola ($26,53 \mu\text{g/g ST}$; neobjavljeni podaci) koji štiti i potpomaže apsorpciju ksantofila (Moran, 2017). U prilog ovome ide i visoka povezanost žutosti zrna i mesa ($r = 0,63$, $P < 0,001$) koja ukazuje da su karotenoidi zrna kukuruza uzrok žutosti mesa.



Grafikon 3. Žutost (b*) mesa pilića hranjenih Bc hibridima kukuruza
Stupci označeni različitim slovima se signifikantno razlikuju ($P < 0,001$)

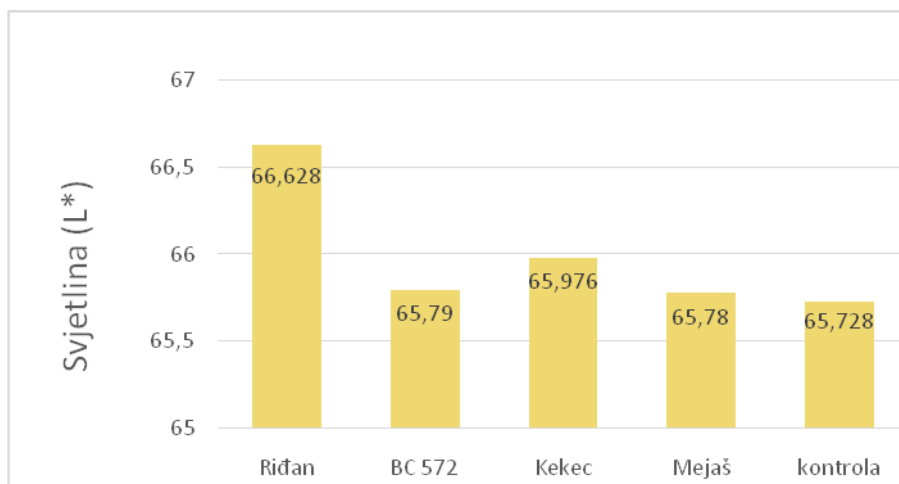
4.3. Boja prsne kože

Pilići hranjeni hibridima u tipu kvalitetnih zubana, bez dodane boje, imali su žuću boju kože (slika 16).



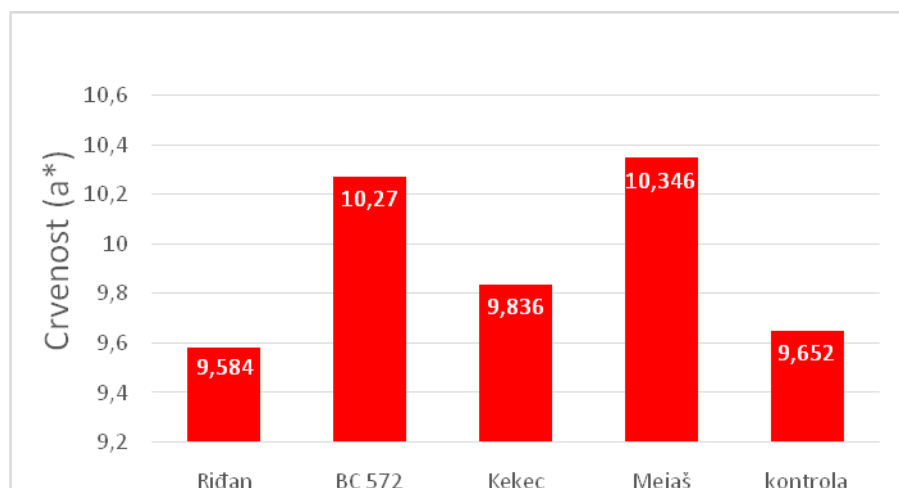
Slika 16. Boja pilića hranjenog hibridom Mejaš (lijevo) i kontrolnim hibridom (desno)
Izvor: Kljak, 2017.

Svjetlina prsne kože pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza bila je slična ($P > 0,001$) i kretala se, kao i svjetlina sirovog prsnog mesa, u uskom rasponu vrijednosti od 65,7 do 66,6 (grafikon 4). Dobivene vrijednosti svjetline prsne kože bile su unutar raspona 65 – 82 koje iznose Sirri i sur. (2010) za svjetlinu kože prsiju talijanskih pilića. Svjetlina prsne kože bila je veća od svjetline mesa zbog manje crvenosti, odnosno odsutnosti spojeva željeza (grafikoni 2 i 4), a što potvrđuje negativna korelacija između svjetline i crvenosti kože ($r = -0,428$; $P < 0,05$).



Grafikon 4. Svjetlina kože pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza

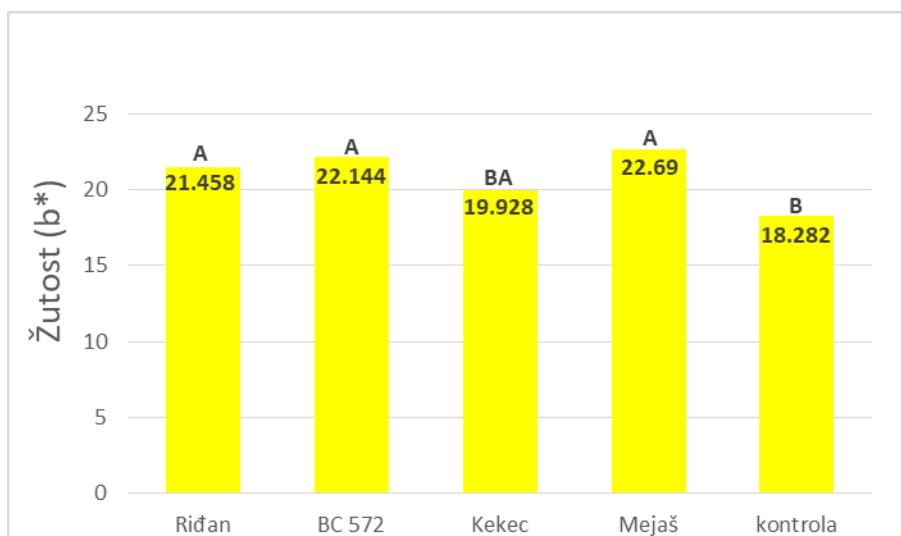
Hibrid nije utjecao ($P > 0,001$) na crvenost kože koja je u prosjeku iznosila 9,61 (grafikon 5) i kretala se u uskim granicama ($SD = 0,9$). Uočava se tendencija veće crvenosti kože pilića hranjenih hibridima s višim od prosjeka sadržajem crvenog pigmenta β -kriptoksantina (BC 572 i Mejaš). S obzirom da je hrana sadržavala dovoljno (10000 IU/kg) vitamina A, za pretpostaviti je da β -kriptoksantin nije iskorišten za sintezu vitamina A, već je deponiran kao crvena boja u kožu pilića, a na što upućuju i korelacije, iako slabe, od 0,29 sa sadržajem u zrnu i 0,25 s dnevnom konzumacijom β -kriptoksantina.



Grafikon 5. Crvenost kože pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza

Žutost kože pilića hranjenih Bc hibridima bila je veća ($P < 0,001$) od istih hranjenih kontrolnim hibridom (grafikon 6). Prosječna žutost kože pilića hranjenih bez dodanih ksantofila bila je vrlo slična (21 vs. 22) prosječnoj žutosti kože prsiju talijanskih pilića hranjenih s 12 –15 mg/kg ksantofila (Sirri i sur., 2010). Žutost kože pojedinih pilića kretala se u široku rasponu od 15,6 do 25,7 i pokazivala najveću varijabilnost među parametrima boje, što je posljedica različitog sadržaja karotenoida u pojedinim hibridima ($R = 0,399$; $P < 0,05$). Navedeno potvrđuje i povezanost žutosti zrna kukuruza i boje kože pilića ($r = 0,48$; $P < 0,05$). Sirri i sur. (2010) također su utvrdili veću varijabilnost žutosti nego sadržaja ksantofila u hrani pilića, što se može objasniti razlikom ne samo u sadržaju, nego i u deponiranju i raspodijeli pojedinih karotenoida iz pojedinih hibrida.

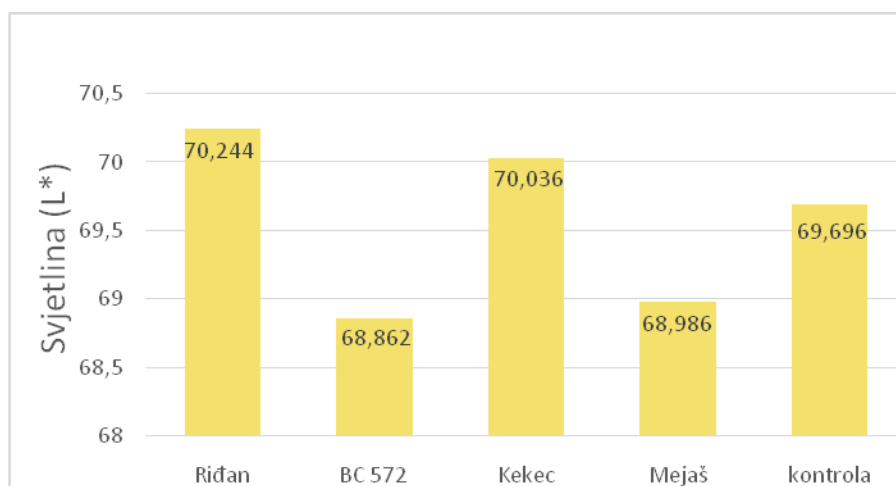
Žutost kože signifikantno je korelirala sa žutosti mesa ($r = 0,599$; $P < 0,001$), masti (0,64 ; $P < 0,001$) i piska (0,492; $P < 0,05$) te je dobar senzorni pokazatelj žutosti cijelog pileta.



Grafikon 6. Žutost (b*) kože pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza
Stupci označeni različitim slovima signifikantno se razlikuju ($P < 0,001$)

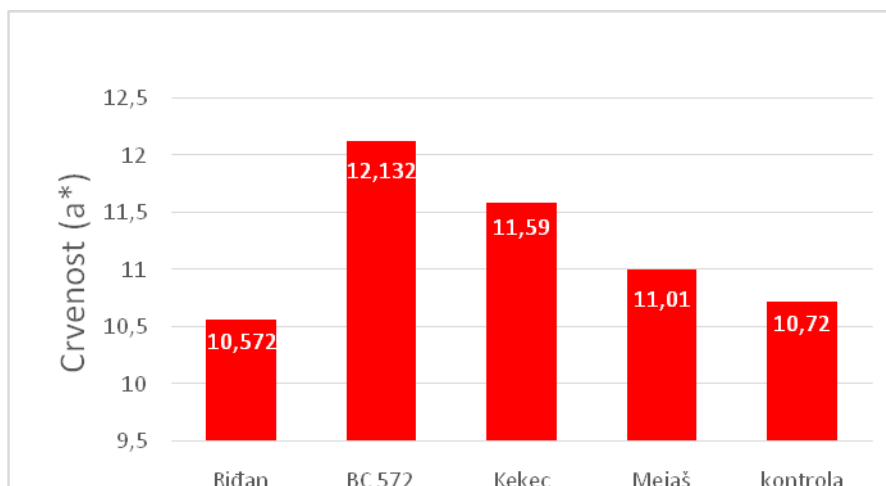
4.4. Boja potkožne masti

Svjetlina potkožne masti nije se razlikovala ($P < 0,001$) između pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza (grafikon 7) te je u prosjeku iznosila 69,56 i kretala se u rasponu od 65,8 do 72,6 za sve piliće. Svjetloća potkožne masti bila je slična istoj prsne kože ($r = 0,574$; $P < 0,002$) vjerojatno zbog slične koncentracije ksantofila u njima (Perez-Vendrell i sur., 2001).



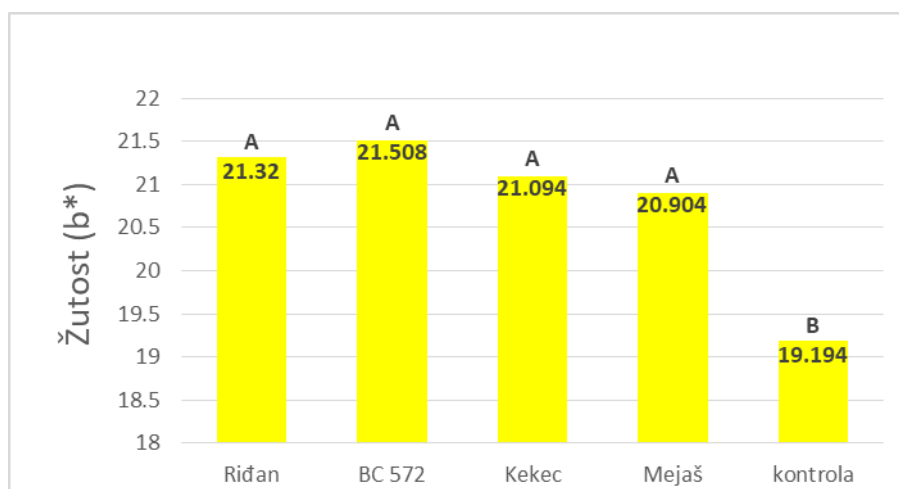
Grafikon 7. Svjetlina potkožne masti pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza

Poput svjetline, i crvenost potkožne masti bila je slična ($P > 0,05$) među pilićima hranjenim različitim hibridima kukuruza (11,2; 8,2 –13,4) (grafikon 8). Unatoč tome, pozitivna korelacija između crvenosti zrna kukuruza i crvenosti potkožne masti ($r = 0,60$; $P < 0,01$) ukazuje da hibrid može pridonijeti ovom parametru boje, no varijabilnost između pilića istog tretmana prevelika je da bi se utvrdio utjecaj hibrida. Koeficijent parcijalne korelacije pokazuje srednje jaku povezanost između crvenosti kože i potkožne masti ($r = 0,42$, $P < 0,05$).



Grafikon 8. Crvenost potkožne masti pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza

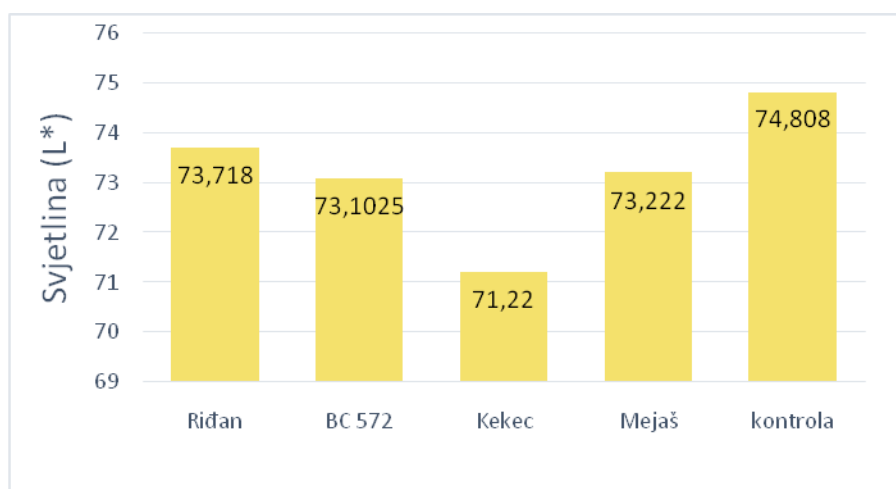
Žutost potkožne masti bila je veća ($P < 0,001$) u pilića tovljenih Bc hibridima nego stranim kontrolnim hibridom, najvjerojatnije zbog višeg sadržaja ukupnih karotenoida u Bc hibridima, a što potvrđuje tendencija povezanosti unosa karotenoida i žutosti ($r = 0,346$; $P < 0,09$) te povezanost žutosti zrna kukuruza i potkožne masti ($r = 0,46$; $P < 0,05$). Prosječna žutost masti bila je 20,8, te je kao i svjetlina i crvenost slična žutosti kože (20,9). Međutim, žutost masti bila je snažnije ($r = 0,64$; $P < 0,001$) povezana sa žutosti kože nego njihove svjetlina i crvenost, što se može povezati s utjecajem razine ksantofila. Nadalje, od promatranih parametara boje, samo su se žutost kože i potkožne masti istraživanih hibrida signifikantno razlikovale.



Grafikon 9. Žutost potkožne masti pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza

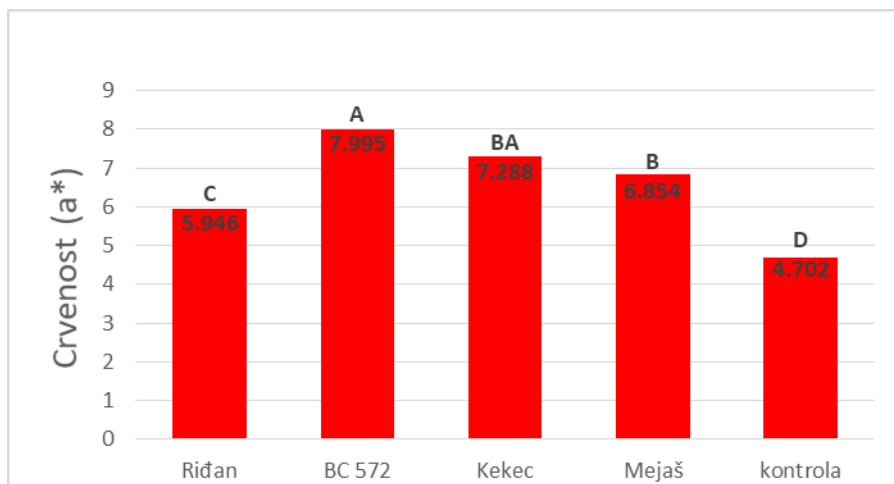
4.5. Boja kože piska

Pisak je vidljivi pokazatelj sadržaja ksantofila u hrani živih pilića. Svjetlina piska bila je slična kod pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza, ali pokazuje tendenciju najviše vrijednosti u pilića hranjenih kontrolnim hibridom (grafikon 10). Pisak je imao najvišu svjetlinu (73,2) među promatranim dijelovima tijela pilića i, logično, negativno je bio povezan s crvenosti piska ($r = -0,566$; $P < 0,001$). Svjetlina piska u ovom istraživanju bila je slična svjetlini piska (73 – 77) u istraživanju Perez – Vendrell i sur. (2001) te od 77 – 79 u istraživanju Sirri i sur. (2010) iako su u navedenim, za razliku od ovog istraživanja, pilići hranjeni dodanim sintetskim ksantofilima.



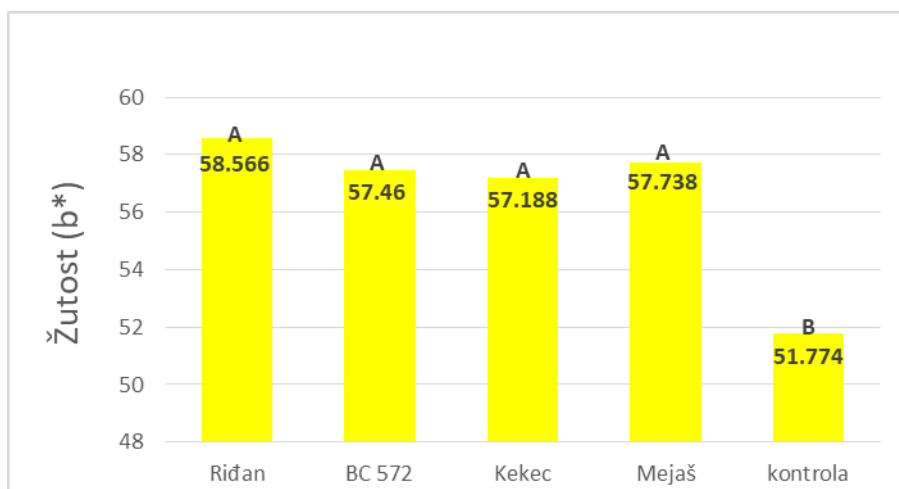
Grafikon 10. Svjetlina piska pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza

Crvenost piska razlikovala se ($P < 0,001$) među pilićima hranjenim različitim hibridima kukuruza (grafikon 11). Prosječna crvenost bila je 6,50 i najniža je bila u pilića hranjenih kontrolnim hibridom (4,7). Među Bc hibridima, najviša je bila kod pilića hranjenih hibridom BC 572 (8). Crvenost je bila povezana sa sadržajem svjetlonarančastog zeaksantina ($r = 0,53$; $P < 0,001$) i narančastog β -kriptoksantina ($r = 0,618$; $P < 0,01$) te ukupnih karotenoida ($r = 0,54$; $P < 0,01$) u zrnu kukuruza, ali i s crvenosti ($r = 0,66$; $P < 0,001$) i žutosti ($r = 0,65$; $P < 0,001$) zrna kukuruza. Među istraživanim hibridima upravo BC 572 sadržava najviše narančasto-crvenih pigmenata zekasantina, β -kriptoksantina i β -karotena (tablica 2) zbog čega je najcrveniji hibrid (tablica 6).



Grafikon 11. Crvenost piska pilića tovljenih različitim hibridima kukuruza

Žutost, kao i crvenost piska pilića hranjenih Bc hibridima kukuruza, bila je veća ($P < 0,001$) nego kod pilića hranjenih kontrolnim hibridom vjerojatno zbog višeg sadržaja karotenoida, višeg udjela narančasto-crvenih pigmenata zeaksantina, β -kriptoksantina i β -karotena te njihove bolje apsorpcije.



Grafikon 12. Žutost piska pilića hranjenih različitim hibridima kukuruza

Pisak pilića imao je najveću žutost (56,51) među promatranim dijelovima tijela pilića (grafikon 12) i nalazio se u užem rasponu pojedinačnih vrijednosti od 46,5 do 62,8 nego u istraživanju Sirri i sur (2010), koji su dobili pojedinačne vrijednosti od 24,22 do 78,65. Razlog manjeg variranja žutosti može se pripisati boljoj distribuciji u koži prirodnih od sintetskih bojila koja su dodavana u hranu pilića u istraživanju Sirri i sur. (2010).

5. Zaključak

Žutost piska i kože najbolji su parametri boje koji pokazuju opskrbljenost brojlerskih pilića karotenoidima. Istraživanje pokazuje da postoje razlike između hibrida kukuruza u sadržaju karotenoida i pigmentaciji, prvenstveno kože i piska pilića, te da se odabirom hibrida s višim sadržajem karotenoida može postići željena žuta boja kože bez dodavanja pigmenata, što smanjuje cijenu troškova proizvodnje brojlerskog mesa.

6. Literatura

1. Almaši, R. i sur. (2002). Bolesti, štetočine i korovi kukuruza i njihovo suzbijanje. Institut za kukuruz Zemun polje, Školska knjiga, Novi Sad
2. Al-Babili, S., Bouwmeester, H.J. (2015). Strigolactones, a novel carotenoid-derived plant hormone. *Annual Review of Plant Biology*, 66:161-186.
3. Allen, C.D., Fletcher, D.L., J. K. Northcutt, J.K., S. M. Russell, S.M. (1998). The relationship of broiler breast color to meat quality and shelf-life. *Poultry Science*, 77:361–366.
4. Alfieri, M., Hidalgo, A., Berardo, N., Redaelli, R. (2014). Carotenoid composition and heterotic effect in selected Italian maize germplasm. *Journal of Cereal Science*, 59:181-188.
5. Baker, R., C. Günther (2004). The role of carotenoids in consumer choice and the likely benefits from their inclusion into products for human consumption. *Trends in Food Science & Technology*, 15: 484-488.
6. Barbut, S. (2002). *Poultry products processing. An Industry Guide*. CRC Press. Boca Raton.
7. BASF (2009). *Animal Nutrition Technical Information 2009*. www.nutrition.basf.com
8. Bianchi, M., M. Petracci, F., Sirri, E., Folegatti, Franchini, A., Meluzzi, A. (2007). The influence of the season and market class of broiler chickens on breast meat quality traits. *Poultry Science Biochemistry*, 79:111-139.
9. Blessin, C. W., Brecher, J.D., Dimler, R.J. (1963). Carotenoids of corn and sorghum. 5. Distribution of xanthophylls and carotenes in hand-dissected and dry-milled fractions of yellow dent corn. *Cereal Chemistry*, 40:582-586.
10. Burt, A.J., Grainger, C.M., M.P. Smid, M.P., Shelp, B.J., Lee. E.A. (2011). Allele mining in exotic maize germplasm to enhance macular carotenoids. *Crop Science*, 51:991–1004.
11. Carilho, K., Cepeda, A., Fente, C., Regal, P. (2014). Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry*, 56, 49-73.

12. Castaneda, M.P., Hirschler, E.M., Sams, A.R. (2005). Skin pigmentation evaluation in broilers fed natural and synthetic pigments. *Poultry Science*, 84:143–147.
13. Combs, Jr., G.F. (2008). *The Vitamins. Fundamental Aspects in Nutrition and Health*. Third Edition. Elsevier Academic Press 30 Corporate Drive, Suite 400, Burlington, MA 01803, USA.
14. Correa, C. E. S., Shaver, R.D., Pereira, M.N., Lauer, J.G., Kohn, K. (2002). Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. *Journal of Dairy Science*, 85:3008–3012.
15. Cuttriss, A. J., Cazzonelli, C. I., Wurtzel, E. T., Pogson, B. J. (2011). Carotenoids. In F. Rébeillé & R. Douce (Eds.), *Biosynthesis of Vitamins in Plants. Part A, Vitamins A, B1, B2, B3, B5* (pp. 1-36).
16. Desmarchelier, C., Borel, P. (2017). Overview of carotenoid bioavailability determinants: From dietary factors to host genetic variations. *Trends in Food Science & Technology*
17. Državni zavod za statistiku (2016). www.dzs.hr. Pristupljeno: 01.03.2018.
18. Farre, G., Bail, C., Twyman, R.M., Capell, T., Christou, P., Zhu, C. (2011). Nutritious crops producing multiple carotenoids – a metabolic balancing act. *Trends in Plant Science*, 16, 532-540.
19. Fletcher, D. L. 1999. Poultry meat colour. Pages 159–174 in *Poultry Meat Science*. R. I. Richardson and G. C. Mead, ed., CAB International, Oxon, UK.
20. Fletcher, D.L., Qiao, M., Smith, D.P. (2000). The Relationship of raw broiler breast meat color and pH to cooked meat color and pH. *Poultry Science*, 79:784–788.
21. Fletcher, D. L. 2002. Poultry meat quality. *World's Poultry Science Journal*, 58:131–145.
22. Flipot, P., Belzile, R.J., Brisson, G.J. (1971). Availability of the amino acids in casein, fish meal, soya protein and zein as measured in the chicken. *Canadian Journal of Animal Science*, 51: 801-802.
23. Froning, G. W., 1995. Color of poultry meat. *Poultry and Avian Biology Reviews*, 6:83–93.

24. Grundy, M.M.L., Edwards, C.H., Mackie, A.R., Butterworth, P.J., Ellis, P.R (2016). Re-evaluation of the mechanisms of dietary fibre and implications for macronutrient bioaccessibility, digestion and postprandial metabolism. *British Journal of Nutrition*, 116:816–833.
25. Guliano, G. (2014). Plant carotenoids: genomics meets multi gen – engineering. *Current Opinion in Plant Biology*, 19:111–117.
26. Hulshof, P. J., Kosmeijer-Schuil, T., West, C. E., Hollman, P. C. (2007). Quick screening of maize kernels for provitamin A content. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 655-661.
27. Janisch, S., Krischek, C., Wicke, M. (2011). Color values and other meat quality characteristics of breast muscles collected from 3 broiler genetic lines slaughtered at 2 ages. *Poultry Science*, 90:1774–1781.
28. Juncher, D., Ronn, B., Mortensen, E. T., Henckel, P., Karlsson, A. Skibsted, L. H. (2001). Effect of pre-slaughter physiological conditions on the oxidative stability of colour and lipid during chill storage of pork. *Meat Science*, 58 (4), 347–357.
29. Jun Ye, Lingling Feng, Jian Xiong (2011). *International Journal of Food Science and Technology*. Ultrasound-assisted extraction of corn carotenoids in ethanol, 46, 2131–2136.
30. Lozano-Alejo, N., Vázquez-Carrilloa, G., Pixley, K., Palacios-Rojas, N. (2007). Physical properties and carotenoid content of maize kernels and its nixtamalized snacks. *Elsevier Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8:385-389.
31. Hashimoto, H., Uragami, C., Cogdell, R.J. (2016). Carotenoids and photosynthesis. *Subcellular*
32. Hencken, H. (1992). Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. *Poultry Science*, 71, 711e717.
33. Hou, X., Rivers, J., León, P., McQuinn, R.P., Pogson, B.J. (2016). Synthesis and function of in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 105:18232–18237.

34. Karadas, F., Grammenides E., Surai P. F., Acamovic T., Sparks N.H.C. (2006). Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and composition. *British Poultry Science*, 47,561-566.
35. Kean, E.G., Hamaker, B.R., Ferruzzi, M.G. (2008). Carotenoid bioaccessibility from whole grain and degermed maize meal products. *J Agric Food Chem*, 56:9918–26.
36. Kleyn, R. (2013). *Chicken Nutrition. A guide for nutritionist and poultry professionals.* Context Products Ltd. Packington, England.
37. Kljak, K., Drdić, M., Karolyi, D., Grbeša, D. (2012). Pigmentation efficiency of Croatian corn hybrids in egg production. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 7, 23-27.
38. Kljak, K., Grbeša, D., Karolyi, D. (2009). Procjena sadržaja karotenoida prema intenzitetu boje zrna kukuruza. *Stočarstvo*, 63, 93-110.
39. Kljak, K., Grbeša, D., Karolyi, D. (2014). Reflectance colorimetry as a simple method for estimating carotenoid content in maize grain. *Journal of Cereal Science*, 59, 109-111.
40. Kralik, G., Janječić, Z., Kralik, Z., Škrtić, Z. (2013). Stanje u peradarstvu i trendovi njegova razvoja. *Poljoprivreda*, 19:49-58.
41. Konica Minolta (2017). <http://sensing.konicaminolta.us/2014/04/identifying-color-differences-using-l-a-b-or-l-c-h-coordinates/>. Pristupljeno 24. kolovoza 2017.
42. Kurilich, A.C., J.A. Juvik (1999). Simultaneous quantification of carotenoids and tocopherols in corn kernel extracts by HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 22: 2925-2934.
43. Kurilich, A. C., Juvik, J. A. (1999). Quantification of Carotenoid and Tocopherol Antioxidants in *Zea mays*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1948-1955.
44. Mancini, R.A. (2009). Meat color. U: Improving the sensory and nutritional quality of fresh meat. Urednici: J.P. Kerry i D.A. Ledward. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 89-110.
45. Mattea, F., Martín, A., Cocero, M. J. (2009). Carotenoid processing with supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*, 93:255-265.

46. Mateo-Oyague, J. (2001). Estabilidad del color en carne fresca. In: Memorias del Coloquio Internacional en Ciencia y Tecnologia de la Carne. Universidad Autdnoma del Estado de Hidalgo, Mexico, pp. 26-43.
47. McGraw, K.J., G.E. Hill, K.J. Navara, R.S. Parker (2004). Differential accumulation and pigmenting ability of dietary carotenoids in colorfulfinches. *Physiological and Biochemical Zoology*, 77: 484-491.
48. Moran, Jr. E.T. Jr (2017). Nutrients central to maintaining intestinal absorptive efficiency and barrier integrity with fowl. *Poultry Science*, 96:1348–1363.
49. Moros, E.E., Darnoko, D., Cheryan, M. & Perkins, E.G. (2002). Analysis of Xanthophylls in Corn by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5787–5790.
50. Mortensen, A. (2006). Carotenoids and other pigments as natural colorants. *Pure Applied Chemistry*, 78:1477–1491.
51. Ndolo, B., Trust, B. (2013). Distribution of carotenoids in endosperm, germ, and aleurone fractions of cereal grain kernels. *Food Chemistry*, 139:663–671.
52. Nogareda, C., Moreno. , JA., Angulo, E., Sandmann, G., Portero, M., Capel, I T., Zhu, C., Christou, P. (2016). Carotenoid-enriched transgenic maize delivers bioavailable carotenoids to poultry and protects them against coccidiosis. *Plant Biotechnology Journal*, 14:160–168.
53. Olson, J.A. (1989). Provitamin A function of carotenoids: The conversion of β -carotene into vitamin A. *The Journal of Nutrition*, 119: 105-108.
54. Perez-Vendrell, A.M., Hernandez, J.M., Llaurodo, L., Schierle, J., Brufau, J. (2001). Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. *Poultry Science*, 80:320–326.
55. Petracci, M., Betti, M., Bianchi, M., Cavani, C. (2004). Color variation and characterization of broiler breast meat. During Processing in Italy. *Poultry Science*, 83:2086–2092.
56. Petracci, M., Fletcher, D.L. (2002). Broiler skin and meat color changes during storage. *Poultry Science*, 81:1589–1597.

57. Prado, J. M., Veggi, P. C., Meireles. M.A.A. (2014). Extraction methods for obtaining carotenoids from vegetables - Review. *Current Analytical Chemistry*, 10(1), 29_66.
58. Rajput, N., Naeem, N., Ali, S., Rui, Y., Tian, W. (2012). Effect of dietary supplementation of marigold pigment on immunity, skin and meat color, and growth performance of broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 14:233-304.
59. Riggi E. (2010). Recent patents on the extraction of carotenoids. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 2(1):75–82.
60. Rodriguez-Amaya, D. B. (1997). Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods. John Snow Incorporated/OMNI Project, Arlington.
61. Sirri , F., M. Petracci , M., Bianchi , M., Meluzzi, A. (2010). Survey of skin pigmentation of yellow-skinned broiler chickens. *Poultry Science*, 89 :1556–1561.
62. Skrivan M., Englmaierova M. (2014). The deposition of carotenoids and α -tocopherol in hen eggs produced under a combination of sequential feeding and grazing. *Animal Feed Science and Technology*, 190, 79–86.
63. Surai, P.F. (2002). Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom
64. Troyer, A.F. (1999). Background of U. S. Hybrid Corn. *Crop Science*, 39:601-626.
65. Tyczkowski,J.,Hamilton,P.B. (1986). Absorption,transport, and deposition in chickens of lutein diester, a carotenoid extracted from marigold (*Tagetes erecta*) petals. *Poultry Science*, 65:1526–1531.
66. Totosaus, A., M. L. Perez-Chabela, M.A., Guerrero, I. (2007). Color og Fresh and Froze Poultry. U: Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. (Nollet, N.M.L.). Blackwell Publishing Professional 2121 StateAvenue,Ames, Iowa 50014, USA. 455-465.
67. Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M.T.D. Cronin, M. Mazur, J. Telser (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44–84.

68. Zhu, C., Naqvi, S., Breitenbach, J., Sandmann, G., Christou, P., Capell, T. (2008). Combinatorial genetic transformation generates a library of metabolic phenotypes for the carotenoid pathway

Životopis

Andrija Makar rođen je 7. studenog 1989. godine u Varaždinu. Osnovnu školu pohađao je u Ludbregu, dok je srednjoškolsko obrazovanje, farmaceutski tehničar, stekao u Medicinskoj školi u Varaždinu. Godine 2008. nastavio je svoje obrazovanje na Agronomskom fakultetu u Zagrebu, smjer Biljne znanosti te nakon završetka preddiplomskog studija 2011. stječe titulu univ. bacc. ing. agr. Iste godine upisuje diplomski studij na istom fakultetu, smjer Hranidba životinja i hrana.